

ラオス人民民主共和国  
地球規模課題対応国際科学技術協力  
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  
終了時評価調査報告書

2019年4月

独立行政法人  
国際協力機構（JICA）  
人間開発部

|        |
|--------|
| 人間     |
| JR     |
| 19-020 |

ラオス人民民主共和国  
地球規模課題対応国際科学技術協力  
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  
終了時評価調査報告書

2019年4月

独立行政法人  
国際協力機構（JICA）  
人間開発部



# 目 次

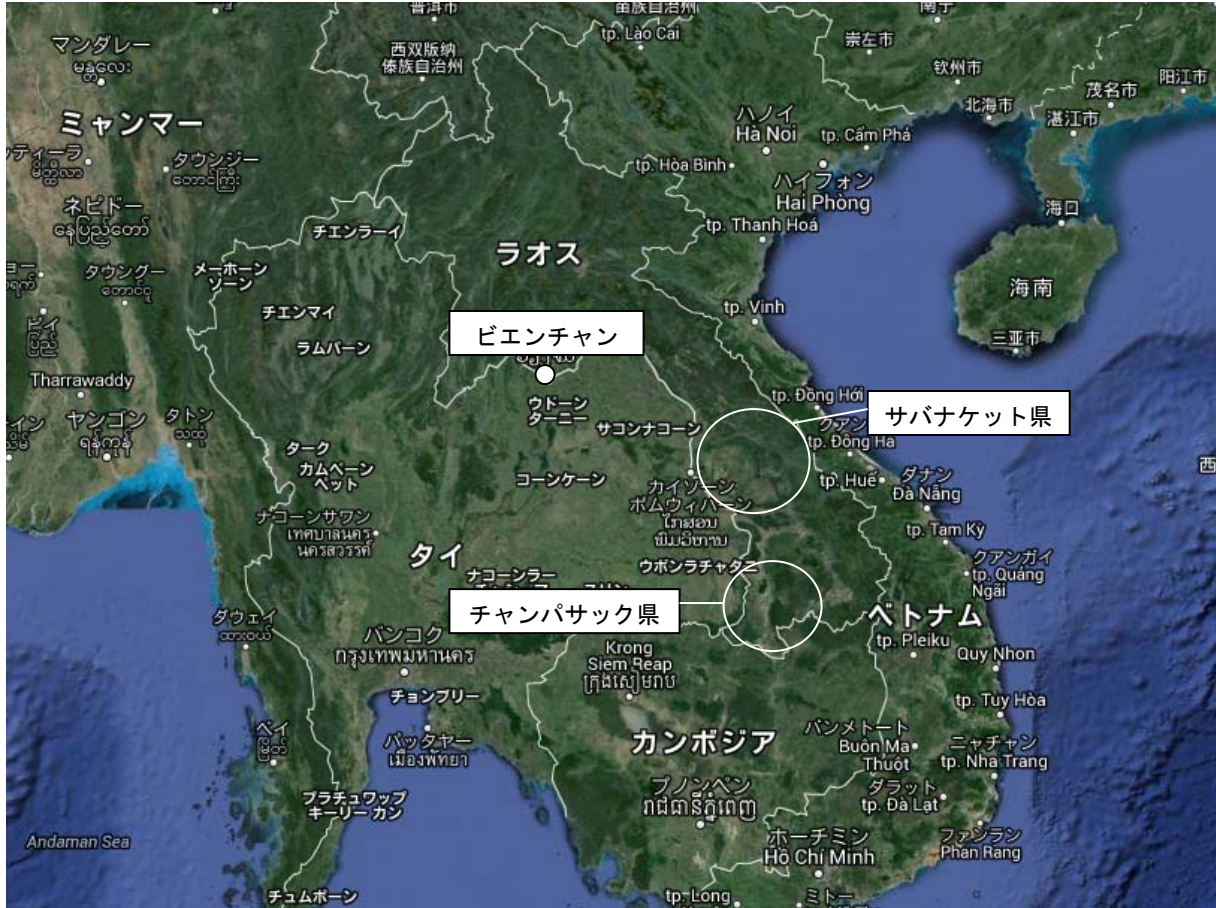
|                    |  |
|--------------------|--|
| プロジェクト配置図          |  |
| 現地調査写真             |  |
| 略語表                |  |
| 評価調査結果要約表          |  |
| Evaluation Summary |  |

|  |    |
|--|----|
| 第1章 終了時評価の概要                                     | 1  |
| 1-1 調査団派遣の経緯                                     | 1  |
| 1-2 終了時評価の目的                                     | 1  |
| 1-3 終了時評価調査団のメンバー                                | 1  |
| 1-4 プロジェクトの枠組み                                   | 2  |
| 第2章 終了時評価の方法                                     | 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 評価手法   | 5  |
| 2-3 評価5項目  | 5  |
| 2-4 PDM version 1に基づいて成果及びプロジェクト目標達成度測定を行ううえでの制限 | 6  |
| 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                                    | 35 |
| 第4章 評価結果   | 37 |
| 4-1 妥当性  | 37 |
| 4-2 有効性  | 39 |
| 4-3 効率性  | 42 |
| 4-4 インパクト  | 45 |
| 4-5 持続性  | 48 |
| 4-6 結論   | 49 |
| 第5章 提言と教訓  | 51 |
| 5-1 提言   | 51 |
| 5-2 教訓   | 52 |
| 第6章 団長総括   | 54 |

付属資料

協議議事録（2018年10月19日署名） .....59

## プロジェクト配置図



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



## 現地調査写真



ラオス国立パスツール研究所（IPL）会議室での  
若手研究者へのヒアリング



IPL での協議



ラオス-日本寄生虫学ラボの視察



マラリア学・寄生虫学・昆虫学センター  
（CMPE）でのヒアリング



12<sup>th</sup> National Health Research Forum



12<sup>th</sup> National Health Research Forum での  
研究代表者 狩野先生（右端）の登壇





## 略 語 表

| 略語       | 正式名称  | 日本語訳                                |
|----------|---|-------------------------------------|
| 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                      |
| DHIS 2   | District Health Information System 2                | 地域保健情報システム                          |
| DHOs     | District Health Offices                             | 郡保健局                                |
| DNA      | Deoxyribonucleic Acid                               | デオキシリボ核酸                            |
| ELISA    | Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay                   | 酵素結合免疫吸着法                           |
| GFATM    | Global Fund for 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                          | 施設内倫理審査委員会                          |
| JAXA     | Japan Aerospace Exploration Agency                  | 国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構                  |
| 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                    |
| Lao TPHI | Lao Tropical and Public Health Institute            | ラオス熱帯医学公衆衛生研究所                      |
| 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 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                         | (共同研究等にかかわる) 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                |
| NCLE     | National Center for Laboratory and Epidemiology     | 国家ラボラトリー・疫学センター                     |

|         |   |                             |
|---------|---|-----------------------------|
| NIOPH   | National Institute of Public Health                                     | 国家公衆衛生研究所                   |
| NTD     | Neglected Tropical Diseases   | 顧みられない熱帯病                   |
| ODA     | Official Development Assistance   | 政府開発援助                      |
| OVI     | Objectively Verifiable Indicators                                       | (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 (法)              |
| 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                        |
| R/D     | Record of Discussions   | 討議議事録                       |
| 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                      |
| WPRO    | WHO Western Pacific Regional Office                                     | WHO 西太平洋事務局                 |

## 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〔地球規模課題国際科学技術協力（SATREPS）〕  |
| 所轄部署：人間開発部保健第2グループ保健第4チーム   | 協力金額：4億円  |
| 協力期間  | (R/D)：<br>2014年5月1日～<br>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）、* <u>ラオス国立パスツール研究所（IPL）</u> （ラオス側代表機関）、ラオス熱帯医学公衆衛生研究所（Lao TPHI）、国家ラボラトリー・疫学センター（NCLE） |
|   | 日本側協力機関： <u>国立研究開発法人国立国際医療研究センター（NCGM）</u> （日本側代表機関）、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：国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）   |
| <p>1-1 協力の背景と概要</p> <p>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。</p> <p>かかる状況に対応するため、ラオス政府の要請に基づき、独立行政法人国際協力機構（JICA）は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」と記す）を保健省下の組織であるCMPE及びIPLをカウンターパート機関としてSATREPSの枠組みで実施している。</p> <p>1-2 協力内容</p> <p>(1) プロジェクト目標</p> <p>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。</p> <p>(2) 成果</p> <p>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（PCR）法・ループ媒介等温（核酸）増幅（LAMP）法等〕が開発・普及される。</p> <p>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</p> |   |

\* 下線は代表機関

遺伝子構造の時空間的变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：合計4名（寄生虫学研究1名、業務調整延べ3名）（101人・月）及び延べ73名の短期専門家（15人・月）
- ・ カウンターパート研究者の来日：延べ9名、研究成果の共有や研究計画の協議等（合計61日間）
- ・ 本邦研修：合計5名（マラリア診断、薬剤感受性試験、遺伝子解析、マラリア疫学研究等）
- ・ 資機材の供与：DNAシーケンサー、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
- ・ 在外事業強化費：試薬、消耗品等の調達費やその他雑費を含む一般業務費、旅費、研修経費等

#### ラオス側

- ・ カウンターパート配置：計20名（プロジェクト・ダイレクター、プロジェクトマネージャー、研究者など）
- ・ 施設及び資機材：IPL内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、データ及び標本等
- ・ ローカルコスト：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係るJICA負担分以外の費用

## 2. 評価調査団の概要

|      |                |       |                                    |
|------|----------------|-------|------------------------------------|
| 調査者  | 金井 要           | 団長・総括 | JICA 人間開発部 技術審議役                   |
|      | 前田 紫           | 協力企画  | JICA 人間開発部保健第2グループ保健第4チーム 職員       |
|      | 井上 洋一          | 評価分析  | (株)日本開発サービス調査部 主任研究員               |
|      | 石井 克美          | 計画・評価 | AMED 国際事業部国際連携研究課 主幹<br>(オブザーバー参加) |
| 調査期間 | 2018年10月2日～20日 |       | 評価種類：終了時評価                         |

## 3. 評価結果の概要

### 3-1 実績の確認

#### (1) 成果1

マラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法（Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit）について、プロジェクトは導入した3つの県保健局マラリア学・寄生虫学、昆虫学スーパーション（SMPE）において適切な検査診断のための地方部ラボ環境での運用上の問題や製品としての改良の必要性を確認した。また、Loopamp™ の普及には世界保健機関（WHO）の事前認

証を取得し、その結果を基にラオス保健省が同法を公定法として承認する必要がある。そのため成果 1 で示されているような Loopamp™ をプロジェクトの枠組みの中で普及することは困難であることが関係者間の共通認識である。このような状況を踏まえ、LAMP 法の検出器を浸淫地域の郡の医療機関に 5 台導入し、プロジェクト期間終了後も臨床症例の蓄積を継続するとともに、上述の問題解決のための取り組みや改良を継続する予定である。

一方で、指標の達成状況にも示したとおり、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症とともに、疾患の特性やラオスにおける対策活動などを考慮すると、流行地域の臨床現場で診断サービスを提供する必要性はない。また、保健省の依頼により、特定の地域で実施する有病率調査にプロジェクトは PCR 法や LAMP 法、ELISA 法などによる検査協力を継続しており、成果 1 で示される保健省は IPL がラオスのメコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症検査のリファレンス・ラボラトリーとして機能することを期待していることから、IPL でこれらの遺伝子診断技術を備えておく必要がある。したがって、当初想定したものと異なるかたちであるが、プロジェクトはラオスでのニーズに即したメコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症の診断法開発・普及を達成したと考えることができる。

以上のことから、プロジェクトは 3 つの対象疾患に対する DNA 検出法を確立し、プロジェクトの研究に使用するとともに、それぞれの疾患で求められる運用に適したかたちでラオスの感染症対策に貢献できていることが確認された。したがって、当初想定されたかたちとは異なる部分はあるものの、成果 1 は終了時評価時点でおおむね達成されているといえる。

## (2) 成果 2

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。また、プロジェクトは発熱などのマラリア感染に特徴的な症状を呈さない無症候のマラリア感染が一定程度存在することを明らかにした。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、プロジェクトはマラリア排除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、終了時評価までのプロジェクトの重要な成果の一つと考えられる。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）を惹起する可能性があるグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ（G6PD）欠損をもつ住民の状況を遺伝疫学的に調査し、有病率を明らかにした。このことは一般の根治療法を安全に実施することも重要であるため、プロジェクトは三日熱マラリア原虫感染に向けた集団駆虫を考慮するうえで重要な情報を提供したと考えられる。

成果 2 に関係するその他の成果として、プロジェクトはラオス初のサルマラリア原虫のヒト感染症例を発見した。一般的にサルマラリア (*Plasmodium knowlesi*) は、遺伝的に三日熱マラリア原虫と類似していることから、迅速診断テストの結果だけでなく PCR 法でも三日熱と間違っ て診断される場合があることが知られている。サルマラリア原虫のヒト感染は重症化する場合があり、マレーシアでは死亡例も多数報告されている。したがって、迅速診断テストで三日熱

マラリアと診断されても、油断せず適切な抗マラリア薬による治療を実施する必要があることが、本プロジェクトの研究成果から明らかとなった。

このように、マラリアに関しては終了時評価まで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、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、ラオスのマラリア対策を実施するうえで重要なエビデンスを保健省や WHO などの関係機関に提供した。メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症については、集団遺伝学的解析の適用とはならないことが関係者間での共通認識となっているため、総合的に判断すると終了時評価時点での成果 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 *pfprt* 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。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。また、プロジェクトはアルテミシニン耐性に関連する遺伝子 *K13* について大規模な調査、解析を実施したところ、カンボジア由来のアルテミシニン耐性原虫は人の移動に伴いラオス南部から徐々に北部へと拡散し、2017 年末には最北のポンサリー県にまで到達したと推察された。以上の結果から、アルテミシニン耐性マラリアはラオスのポンサリー県から中国雲南省へ拡散する危険性が示唆された。このような結果から、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。

上記のとおり、終了時評価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や研究成果を得ている。その成果は学術論文として国際誌に発表され、そのうちの一つは世界的にも権威のある学術誌である。また、これらの知見や研究成果はラオスのみならず、地域、世界がマラリア対策を行ううえで重要なエビデンスとして関係機関に供給されていることから、終了時評価時点での成果 3 の達成度は非常に高いと考えられる。

### (4) 成果 4

マラリアに関して、成果 1~3 のもとで流行状況や薬剤耐性の分布、拡散にかかわる調査・分析がプロジェクトの研究として実施された。メコン住血吸虫症についても、プロジェクトは感度、特異度の高い DNA 検出法を IPL で確立し、ヒトだけではなく媒介貝や動物の感染率調査などの研究に適用している。プロジェクトはこれらの感染率の結果と国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構 (JAXA) の協力によって提供された人工衛星からの地理データを複合的に解析してリスクマップを作成するとともに、感染のリスク要因の分析も行った。タイ肝吸虫症についても同様に、プロジェクトは感度、特異度の高い DNA 検出法を開発し、プロジェクトの研究に使用した。特に、タイ肝吸虫 DNA 検出法の開発作業を通じて、プロジェクトは顕微鏡検査では実際にはタイ肝吸虫に形態学的に類似する吸虫症がタイ肝吸虫として診断されている割合が一定程度あることを明らかにした。これらの活動を通して得られた知見や研究成果は、保健省だけでなく WHO やその他のラオスや地域のマラリア対策にかかわる関係機関にエビデンスとし

て供給され、政策の立案や流行の監視、対策の実施に直接的、間接的に活用されている。

プロジェクト期間内ではポジション・デビエンスのような科学的根拠に基づいた住民の感染予防に向けた手段を構築できなかったものの、プロジェクトは IPL において感度、特異度の高い遺伝子検出法を確立し、ラオスー日本寄生虫学ラボをこれら対象疾患のリファレンス・ラボラトリーとして機能させることに大きく貢献した。また、プロジェクトの研究成果の共有はラオスにおける対象疾患の監視に直接的に貢献している。以上のことから、終了時評価時点で成果 4 はおおむね達成できていると考えられる。

#### (5) 成果 5

プロジェクトはラオス人若手研究者育成を重視し、プロジェクト活動を進めてきた。その結果、終了時評価時点で同ラボのラオス人研究者はフィールド調査を自ら企画し、検体を収集し、高度な研究機器を活用して DNA 解析結果を出すことができるようになった。また、JICA 専門家の指導のもと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実施し、ラオス人研究者の何名かは得られた成果を国家保健研究フォーラムにおいて英語で口頭発表した。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基礎研修やリフレッシャー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うネットワークの構築につながった。さらに、プロジェクトの長期専門家（NCGM 研究者）は保健省や WHO 等の主催するさまざまな感染症対策にかかわる会議にアドバイザーとして参加しており、会議上での技術的なアドバイスや研究成果の共有を継続して行った。また、保健省の主催する有病率調査活動などでは実施プロトコルの作成に対して直接的な支援を行っており、ラオスの感染対策にかかわる行政官、研究機関の職員的能力強化にも大きく貢献したと考えられる。

このように、プロジェクトはラオスの感染症対策、研究にかかわる人材に対して、さまざまなかたちで能力強化の機会を提供しており、プロジェクト期間終了後も継続されることが見込まれる。以上のことから、終了時評価時点での成果 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

これまで示してきたとおり、プロジェクトは終了時評価までに特にマラリアに関してラオスにおける流行状況（無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。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。

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完了した。国際保健規則（IHR）のもと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る。プロジェクトはこれらの寄生虫病に対する感度、特異度の高い DNA 検出法を IPL で確立し、ラオスにおけるリファレンス・ラボラトリーとして機能させることに貢献した。また、これらの方法を用いて実施した研究成果は保健省や WHO など、ラオスの感染症対策に資するエビデンスとして活用されている。

以上のとおり、プロジェクトはラオスの寄生虫病対策に資するさまざまな研究成果を創出した。また、プロジェクトの実施本体である IPL ラオスー日本寄生虫学ラボは既に科学的エビデンスの供給機関として、また直接的な対策の実施機関としてラオスにおける感染症対策の実施体制に組み込まれており、欠くことのできない存在となっている。したがって、プロジェクト目標の終了時評価時点での達成状況は非常に良好であるといえる。

### 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。

「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、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、ラオス保健省は WHO、JICA 専門家や IPL が支援する本プロジェクトの協力のもとで、2016 年 1 月に「マラリア対策及び排除のための国家戦略 2016～2020」を発表した。この戦略計画の中には、保健省 CMPE はパートナー機関と協力し、県レベルの検査室に分子診断技術を導入すること、IPL が薬剤耐性に関する研究を計画立案、実施することが明記された。これらのことはプロジェクトがマラリア排除のための無症候性マラリア対策や薬剤耐性研究の重要性を関係機関に示してきた結果であるが、同時に本プロジェクトの妥当性を更に高める結果となった。

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（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。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靱な健康安全保障体制を構築し、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 月に策定されたわ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 つの重点分野の一つに位置づけられている。さらに、わが国は 2015 年 5 月の WHO 総会で「薬剤耐性に関する国際行動計画」が採択されて以降、薬剤耐性（antimicrobial resist : AMR）対策に資する国際協力の実施にも力を入れている。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めざしている本プロジェクトの目標と、わ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

プロジェクトの有効性はおおむね高い。

プロジェクト目標の達成度で示したとおり、プロジェクトは終了時評価までに特にマラリアに関してラオスにおける流行状況（無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いる。これらの研究成果は学術論文として国際誌に数多く発表されており、国内外の学会等でも数多くの発表がプロジェクトのメンバーによってなされている（2018年10月時点で国際誌に掲載された原著論文9報、国際会議での口頭発表39件、ポスター発表7件、日本国内学会での口頭発表18件）。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、プロジェクトはマラリアに関してはラオスのみならず大メコン圏、世界のマラリア対策に資する研究成果を創出し、マラリア対策の政策や対策活動策定のエビデンスとして活用されるとともに、IPLがラオスや地域のマラリア対策実施に直接的に貢献していることから、研究成果と技術協力の両方の側面でプロジェクトの達成度は非常に高い。

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、これらは感度、特異度の高い信頼性のあるDNA診断法として保健省やWHOの実施する有病率調査に使用されている。また、保健省もIHR遵守の観点からIPLがこれらの疾患におけるリファレンス・ラボラトリーとして機能することを求めている。さらに、上述のマラリア対策同様、プロジェクトの長期専門家（NCGM研究者）は保健省やWHOの主催する寄生虫症にかかわる対策会議にアドバイザー・メンバーとして参加しており、本プロジェクトの研究成果の共有や技術的アドバイスの提供などもプロジェクト期間を通して継続している。したがって、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症についても、当初の想定とは異なるかたちでラオスでの取り組みに貢献したといえる。

このように、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っていることから、終了時評価時点でプロジェクト目標はおおむね達成できていると認められる。

## (3) 効率性

プロジェクトの効率性はおおむね高い。

IPLの寄生虫学研究室はラオスー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。また、IPLに駐在しているJICA長期専門家（NCGM研究者）が中心となり、NCGMをはじめ東京大学、琉球大学、東京医科歯科大学、順天堂大学などの日本の研究機関との共同研究にかかわる連絡調整は円滑になされていた。なお、プロジェクトの業務調整員もプロジェクト期間終了の約1年前に交代したが、適切に業務の引き継ぎがなされ、ラオスにおけるさまざまな関係機関との連絡調整はプロジェクト期間を通しておおむね適切に実施された。

他方、研究機器・実験用試薬類をラオス国内へ輸入する際の討議議事録（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）を要したケースが多く認められた。IPL の他のラボでも同様の問題が生じていることが中間レビュー時に確認されていた。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。中間レビュー以降も IPL は関係省庁に問題解決を訴えてきたが、終了時評価時点でも解決していない。また、プロジェクトは実施する研究項目に対して、ラオス及び日本で必要な倫理承認を取得したうえで研究活動を実施している。しかしながら、プロジェクトは国家保健研究倫理委員会に対して適切に申請を行っているが、標準的な審査期間を大幅に超えて結果が伝えられる場合も多い。これら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ものの、プロジェクトの円滑な進捗に負の影響を与えている。

#### (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。

IPL 寄生虫学研究室はラオスー日本合同研究室として、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おり、終了時評価時点ではラオスの若手研究者の研究能力はプロジェクト開始時と比較して飛躍的に向上したことを確認した。また、IPL のラオス人若手研究者は JICA 長期専門家（NCGM 研究者）が参加する保健省や WHO などのパートナー機関で実施される会議等に同行し、ラオスの感染症対策や研究成果の社会実装にかかわる実務を学んでいる。とはいえ、本プロジェクトに従事、協力しているラオス人研究者は若手研究者であるため、彼らだけで本プロジェクトで実施した研究を完全に委譲することは当初から想定されていない。また、これまで示したとおり、IPL ラオスー日本寄生虫学ラボは既にラオスの感染症対策の実施体制の一部に組み込まれていると認識されている。NCGM も日本の企業 2 社からの資金協力や科学研究費等を得て IPL での共同研究を維持する予定であることから、本プロジェクトで得られた研究成果や能力強化を強固な土台として、今後も更に向上、発展することが大いに見込まれる。

このほかにも、①栄研化学㈱との共同研究によるマラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法に対する WHO 事前承認取得に向けた取り組み、②ネオファーマ・ジャパン㈱との共同研究による抗マラリア活性物質研究への取り組み、③メコン住血吸虫症の有病率調査を通じた農業森林省との連携とワンヘルス・アプローチへの発展、④本プロジェクトの研究成果に基づいた新たなマラリア薬物併用療法の検討、⑤IPL 内研究室間協力の促進、⑥日本人若手研究者（大学院生）の育成など、プロジェクトによる正のインパクトが確認または期待されている。

#### (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、自己展開は一定程度見込まれる。

政策・制度的側面において、ラオスの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。特にマラリアに関しては 2025 年までの熱帯熱マラリアの排除、2030 年までのすべての型のマラリアの排除に向けて保健省は WHO などさま

さまざま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。本プロジェクトが終了する2019年5月以降もIPLでの日本側研究機関はラオスでの共同研究を継続する。これまでも研究機関と行政とのさまざまな連携により効果的な感染症対策活動がなされてきたが、プロジェクト期間終了後も日本の研究機関のラオスでの共同研究の実施や研究成果の活用に対して、保健省をはじめとする関係機関は一層の支援がなされることが望ましい。

財政的側面においては、NCGMは日本の民間企業による財政支援や科学研究費等を活用して、プロジェクト期間終了後もIPLでの共同研究を継続することが決定している。また、IPLも米国の財団から財政支援を受けて2つのプロジェクトを実施しており、これらの予算の一部が2018年7月よりIPLのすべてのラボで使用できるようになった。具体的には、各ラボで実験用消耗品購入のために毎月1,000ドルが提供され、2年間継続される見込みである。したがって、プロジェクト期間終了後も当面はIPLでの共同研究維持のための予算は確保された。

技術的側面においては、NCGMはプロジェクト期間終了後もIPLでの共同研究を継続することが決定しており、プロジェクトを通して備えられた研究技術、検査技術等は引き続きIPLに残るとともに、これまで同様に研究成果や技術的アドバイスはラオスの感染症にかかわる関係機関に共有される見込みである。他方、本プロジェクトを通じてラオス人若手研究者の能力は飛躍的に向上したものの、研究者能力の向上は長期的視点で実施する必要がある。

### 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

保健省CMPE及びWHOラオスとの面談時に、プロジェクト（JICA専門家及びIPL研究者）はマラリア対策、寄生虫病対策を実施するうえ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。

このような活動を通して構築された信頼関係、協力関係のうえで、プロジェクトの提供したエビデンスを活用して政策策定が行われたり、国の有病率調査に対する検査協力したり、調査活動費の支援を得たり、技術的、財政的な連携が実現している。このような、プロジェクトの研究活動と同時に研究成果の社会実装に向けた取り組み、特に関係機関との信頼関係・協力関係構築に努めたことは、ラオスの感染症対策に大きく貢献すると同時に、本プロジェクトの有効性を大きく高めたと考えられる。

### 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 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。IPL は保健省や財務省に改善を訴え続けてきたが、終了時評価時点でも解決していない。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が若干阻害されたと考えられるため、本件は効率性への阻害要因として整理できる。

### 3-5 結論

終了時評価の結果として、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、プロジェクトは終了時評価時ま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大いに期待できる。

具体的には、プロジェクトはラオスの感染症対策に資する科学的エビデンスの供給や技術的アドバイス、National Survey への調査協力などを通して関係省庁及びパートナー機関等との信頼関係を構築するとともに、関係機関との連携、協調のもとでプロジェクトを前へと進めた。その結果、さまざまな科学的研究成果を創出し、ラオスでの感染症対策に直接的に貢献してきた。

マラリアについては、地方の医療従事者へ技術研修により協力関係が構築され、数多くの検体を収集し研究を進めた結果、マラリア排除に向けた取り組みを強化するうえで重要な無症候性マラリア・キャリアの現状を明らかにした。さらに、薬剤耐性マラリアの発生や拡散に関する重要な知見を得、新たな国際共同研究（監視）への発展などのインパクトも認められている。

他方、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症研究についても、プロジェクトは新しいテクノロジーを用いた DNA 検出法の開発を行い、協力期間内に技術的にはおおむね完成したといえる。これらの DNA 検出法は IPL で診断法として確立し、IPL はこれらの疾患のリファレンス・ラボラトリーとして機能しており、保健省等の実施する有病率調査にも活用されている。

これらの知見や研究成果は国際誌への掲載を通して世界に発信されており、学会発表等の実績も多いことから、プロジェクトを通じて得られた研究成果は極めて大きい。また、プロジェクトは検体収集活動などのフィールド活動の機会を捉え、地域住民に対する感染症予防に向けた健康教育等も地域の保健医療人材と協力して実施しており、多角的なアプローチにより住民の健康向上にも貢献している。プロジェクトは研究活動を通じたラオスの若手研究者の育成にも一貫して取り組んでおり、IPL ラオス-日本寄生虫学ラボのスタッフも国内外のカンファレンス等で英語での口頭発表を実施できるレベルにまで到達している。研究者として独り立ちするためには更なる自己研鑽や日本人研究者などからの指導の継続も必要になるが、JICA の技術協力としての観点でも大きな成果が認められた。

プロジェクト終了後も日本側研究実施機関は企業からの研究資金協力や日本の科学研究費等を

活用して IPL での国際共同研究を継続することになっており、マラリア遺伝子診断キットの WHO 事前認証取得に向けた準備を進めるとともに無症候性マラリア・キャリアの詳細な研究、更には抗マラリア活性物質にかかわる研究への発展等が計画されており、今後も引き続き科学的研究成果のみならず、ラオスの感染症対策への貢献が期待される。

### 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

##### 1) One Health アプローチの推進

プロジェクトは、農業森林省との合同調査を行うなど、セクター間連携の実績を積んでいる。効果的、効率的な感染症対策のためのセクターを超えた連携の重要性にかんがみ、今後はより一層の One Health アプローチ推進に向けて、定期的なセクター間連携会議の開催など、One Health プラットフォーム構築に向けた具体的な取り組みを行うことが望ましい。

##### 2) LAMP 法によるマラリア DNA 検出法を用いた検査運用方法の決定と導入に際する関係者への周知・説明

プロジェクトは今後更に 5 台の LAMP 検出器を栄研化学㈱の協力を得て浸淫地域にある郡の医療施設に導入予定であるが、導入後適切に活用されるよう導入時には関係者へ十分周知する活動を行うとともに、LAMP 法による遺伝子診断を行う対象患者選定のためのアルゴリズム作成や検体移送方法など、実際の運用方法も併せて導入する必要がある。

なお、プロジェクトはラオスの一般的な検査室の環境において保存中の試薬が湿気で劣化し、測定結果に影響する（擬陽性）場合があることを経験した。このような問題は東南アジアやアフリカのような高温多湿のマラリア流行地域ではどこでも起こり得る。無症候性マラリア・キャリアの大規模調査などでは現在の試薬包装で問題ないが、実際の検査室での使用を想定した場合は、プロジェクトはこのような問題解決に向けて開発メーカーである栄研化学㈱と協力し、試薬の個別包装などユーザーの技術や操作に結果に影響されないような製品としての改良に向けて一層の努力を行うことが望ましい。

#### (2) 保健省に対して

##### 1) 地方部の臨床検査ラボの品質管理向上

プロジェクトの研修等を通して地方部の臨床検査ラボ人材の能力強化を図ったが、本プロジェクトで導入したマラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法による結果に対する品質管理を行ううえでの課題を認めた。具体的には、上記検査の標準操作手順書（SOP）が作成され、プロジェクト専門家及び栄研化学㈱のスタッフによる指導がなされているが、ラボスタッフが適切に SOP を遵守しているかを確認するメカニズムは存在していない。本件は本プロジェクトのみならずラオスのラボ全体の品質管理の課題として認識されるため、保健省、NCLE は国全体の臨床検査ラボの内部制度管理システムを構築・強化する取り組みを早急に開始することが求められる。

##### 2) 関係ドナーとの連携による研修効率の向上

プロジェクトで実施している地方部のラボスタッフや行政官への研修について、WHO や他のパートナー機関などが提供しているさまざまな研修と調整・協調し、重複なく効果的に行わ

れるよう、保健省伝染性疾患対策局が適切に連絡調整を行うメカニズムを構築することが望ましい。

### 3) 試薬や研究機器、設備等に対する無税通関許可に関する状況改善

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。

なお、このような無税通関許可に関する問題は保健省のみで解決できるものではなく、財務省や計画投資省、その他の関係機関が関与する複雑な問題である。ただし、IPL 内のすべてのラボだけでなく、ラオスの研究機関も同様の問題をかかえている。つまり、関係省庁はこの問題のラオスにおける感染症対策に及ぼす負の影響を認識し、特に保健省が中心となって問題解決のための省庁間協議の実施など、より一層の努力を行うことが望ましい。

### 4) 研究プロポーザルに対する円滑な倫理審査の実施

プロジェクトは実施する研究項目に対して、ラオス及び日本で必要な倫理承認を取得したうえで研究活動を実施している。しかしながら、プロジェクトは国家保健研究倫理委員会に対して適切に申請を行っているが、標準的な審査期間を大幅に超えて結果が伝えられる場合も多い。特にマラリアやメコン住血吸虫症にかかわる調査は実施のタイミングを考慮する必要もあることから、同委員会は円滑な倫理審査の実施に向けて適切な改善がなされることが求められる。

### 5) IPL での日本の研究機関による国際共同研究推進に向けた一層の協力

JICA の技術協力としての支援は 2019 年 4 月末日に終了するが、日本のプロジェクト実施機関はそれ以降も継続して IPL での国際共同研究を継続する予定である。保健省は IPL を政策策定に資するエビデンス供給機関、病原体診断のための国家リファレンス・ラボラトリー、National Survey 実施協力機関としての重要性を改めて認識し、国際共同研究への支援を更に強化するとともに、各種感染症対策会議への日本人、ラオス人研究者の積極的な巻き込み、研究成果の具体的な活用を積極的に推進することが望ましい。

## (3) ラオス人若手研究者に対して

### 1) 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などの能力強化の選択肢を増やし、プロジェクト終了後も引き続き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）

#### (1) 研究成果の社会実装を念頭に置いた積極的な関係機関への情報共有の重要性

本プロジェクトでは SATREPS の事業目的をよく理解し、マラリア及びメコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症に関する数々の科学的エビデンスを、保健省や WHO などの関係機関にタイミング良く効果的に共有している。ラオスに駐在する JICA 長期専門家（NCGM 研究者）はラオスのさまざまなレベルの対策会議等に参加し、情報共有のみならず、専門的見地からのアドバイスや共同事業の調整などを行い、ラオスや大メコン圏などの地域の感染症対策に大きく貢献してきたことで、本プロジェクトの妥当性や有効性、インパクトを最大限に高めた。

特に大学などの多くの研究機関では研究成果の機密性保持の観点から、学術誌等で公表するまでは情報を公開しない場合が多い。しかしながら、SATREPS は将来の研究成果の社会実装を意識した事業であることから、プロジェクト期間内から常に研究成果の将来のユーザー（関連省庁など）との情報共有や連携を行うとともに、ニーズに即した支援をタイムリーに行うことも、SATREPS の事業目的の達成に必要である。

#### (2) 現地常駐研究者の配置

本プロジェクトでは日本側実施機関から研究者を現地に常駐させ、国際共同研究の実施だけでなく関係機関とのマネジメントも専従として実施した。そのような実施体制を敷いたことで円滑な研究体制の構築や技術協力プロジェクトとしての人材育成を行い、ラオス政府や国際機関へのタイムリーな技術的支援につながった。

SATREPS では研究成果の社会実装を念頭に置いた事業であることから、国際共同研究の効果をより高めるためには、相手国期間に可能な限り常駐の研究者を配置し、研究成果の機密性には配慮しながら積極的に相手国のみならず地域の国際機関等と情報共有や連携を行うことが望まれる。現地に常駐する研究者により、研究体制の強化、人材育成、政府や国際機関への技術的支援を適宜行うことができる。SATREPS での研究成果をより高めるために、研究班は常駐者を置くことが強く望まれる。

### 3-8 フォローアップ状況



## Evaluation Summary

|   |  |
|---|--|
| 1. Outline of the Project   |  |
| Country: the Lao People's Democratic Republic   | 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  |
| Issue/Sector: Healthcare and medical treatment  | Cooperation Scheme: Technical Cooperation Project (Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development: SATREPS)   |
| Division in charge: Health Team 4, Health Group 2, Human Development Department   | Total Cost: 0.4 billion JPY  |
| Period of Cooperation   | (R/D): 1/May/2014 – 30/Apr/2019  |
|   | Partner Country's Implementing Organization: the Ministry of Health (MOH), the Center of Malariology, Parasitology and Entomology (CMPE), <u>Institut Pasteur du Laos (IPL)</u> (the leading organization of the <u>Laotian side</u> ), the Lao Tropical and Public Health Institute (Lao TPHI) and the National Center for Laboratory and Epidemiology (NCLE) |
|   | Supporting Organization in Japan: <u>the National Center for Global Health and Medicine (NCGM)</u> (the leading organization of the Japanese side), the University of Tokyo (UT), University of the Ryukyus (UR), Juntendo University and Tokyo Medical and Dental University (TMDU).  |
|   | Other Related Projects: Japan Agency for Medical Research and Development (AMED)   |
| 1-1 Background of the Project   |  |
| <p>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 "<i>the Lao PDR</i>"). 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 as well as the provision of anthelmintic 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 (JICA), based on the request of the Government of the Lao PDR, commenced a 5-year technical cooperation entitled "<i>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</i>" (hereinafter referred to as "<i>the Project</i>") from May 2014 with the Lao counterpart organizations of the CMPE and IPL of the MOH, under the scheme of SATREPS.</p> |  |
| 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.   |  |
| (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) Inputs

The Japanese side:

- Dispatch of JICA experts: a total of 4 Experts (1 for parasitology research and a total of 3 Project Coordinators), a total of 101 M/M (Man/Month) / Short-term Experts: a total of 73 Experts, 15 M/M;
- Counterpart Researchers' visit to Japan: A total of 9 counterpart personnel for sharing the research progress and outcomes, discussion on the research plan of operation and so on. (a total of 61 days);
- Training in Japan: A total of 5 counterpart personnel for the training of malaria diagnosis, drug susceptibility test, genetic analysis, malaria epidemiological study, etc.;
- Provision of Equipment: DNA Sequencer, electrophoresis imaging system, multi-gas incubator, spectrophotometer, deep freezers, automatic electrophoresis apparatus, realtime-PCR system, etc.; and
- Overseas Activities Costs: procurement of reagents and consumables, travel costs, costs for training, etc.

The Lao PDR side:

- Allocation of Counterpart Personnel: A total of 20 counterparts such as Project Director, Project Manager, researchers;
- Facilities, Equipment and Materials: Laboratory and office spaces in IPL area, existing research instruments, equipment and/or devices in the IPL and provincial CMPEs and available data, information and/or specimens related to the Project.
- Local Costs: Utilities for the project office and costs other than that covered by JICA for equipment maintenance management etc.

2. Terminal Evaluation Team

|                      |                          |                         |  |
|----------------------|--------------------------|-------------------------|--|
| Members              | Dr. Kaname KANAI         | Leader                  | Executive Technical Advisor to the Director General, Human Development Department, JICA                                  |
|                      | Ms. Yukari MAEDA         | Cooperation Planning    | Staff, Health Team 4, Health Group 2, Human Development Department, JICA   |
|                      | Dr. Yoichi INOUE         | Evaluation Analysis     | Senior Consultant, Consulting Division, Japan Development Service Co., Ltd.  |
|                      | Mr. Katsumi ISHII        | Planning and Evaluation | Deputy Manager, Division of International Collaboration, Department of International Affairs, AMED<br>(Observing member) |
| Period of Evaluation | 2/Oct/2018 – 20/Oct/2018 |                         | Study Type: Terminal Evaluation  |

3. Summary of Evaluation Results

3-1 Achievements

(1) Output 1

Concerning the LAMP-based DNA detection method for the diagnosis of malaria (*Loopamp<sup>TM</sup> MALARIA*

*Pan/Pf Detection Kit*), the Project observed some problems in its operation in local clinical settings for proper laboratory diagnosis as well as the necessity of product improvement in all three (3) Station of Malariology, Parasitology and Entomology (SMPEs) under the Provincial Health Offices (PHOs), where kit was introduced by the Project. In addition, it is a common recognition among stakeholders that it is difficult to disseminate the Loopamp™ shown in the Outcome 1 within the framework of the Project, since the Project is required to obtain the prequalification of the Loopamp™ by WHO in advance of Lao MOH's authorization for the product as an official method. Given these circumstances, the Project is planning to introduce another five LAMP detectors to district health facilities in the areas of high malaria endemicity, and continue accumulating clinical cases as well as the efforts for improving the aforementioned challenges even following the completion of the Project.

Meanwhile, as was shown in the achievements of OVI's above, it seemed unnecessary to provide diagnostic services of both Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini at local medical facilities in the endemic areas, in consideration of the characteristics of those diseases as well as the initiatives taken by the Lao government. Further, the Project, in accordance with the request from the MOH, has been providing testing services using PCR, LAMP and/or ELISA techniques for prevalence surveys performed in endemic areas. For these reasons, it is considered that there is little significance in aiming for "dissemination" (application in the Lao PDR as a laboratory testing service) as stipulated in the Output 1. Having said that, since the MOH expects the IPL to function as a reference laboratory for the diagnoses of Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the IPL is necessitated to establish those DNA diagnostic techniques. Therefore, although it is different from the original assumptions, it can be understood that the Project has achieved the development and dissemination of diagnostic methods for both diseases in an alternative in accordance with the needs of the Lao PDR.

Summing up, it was confirmed that the Project established DNA detection methods for the three target diseases, and applied them to the project research subsequently. At the same time, the application of those methods to each disease control measure have practically contributed to the Lao PDR in the form suitable for the operation required for each of them. For these reasons, it is deemed that the Output 1 is generally achieved as of the time of the Terminal Evaluation in a manner different from the original plan.

## (2) 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. The Project also revealed that asymptomatic malaria infection without typical symptoms of malaria infection such as high fever existed to a certain extent. 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 Terminal Evaluation has been an important achievement of the Project in consideration of future elimination of malaria. In relation to this, the Project has brought out the prevalence of G6PD deficiency through the genetic epidemiological analyses by testing its enzyme activity of community resident, since G6PD deficiency has the potential to trigger a severe adverse reaction (acute hemolytic anemia) 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; thus, it is deemed that the Project provided important evidences for considering mass drug administration of primaquine for extermination of Plasmodium vivax. As another achievement under the Output 2, the Project identified the first case of human infection with *P. knowlesi* in the Lao PDR. *P. knowlesi* is genetically similar to *P. vivax*, and it is known that not only the results of rapid diagnostic tests but also PCR may be mistakenly diagnosed as Vivax malaria. It is known that human infections with *P. knowlesi* can be severe in some cases, and many deaths have been reported

in Malaysia. Therefore, this research result of the Project warns that even if the diagnosis was Vivax malaria in a rapid diagnostic test, it is necessary to carry out the treatment with appropriate antimalarial drugs without fail.

In this way, concerning malaria, important epidemiological data has been gathered in the Project as of the Terminal Evaluation and those findings of advanced analyses using population-genetic techniques have also been published as scientific articles in international journals. Simultaneously, the Project has been providing the stakeholders of malaria control such as the MOH and WHO with those findings as convincing evidences for making policies, countermeasures and so on in the Lao PDR. Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, it became a common understanding that the said two diseases are not applicable to the analyses based on population genetics; therefore, it is deemed from general assessment that the degree of achievement of the Output 2 has largely been appropriate as of the time of the Terminal Evaluation.

### (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 *pfert* in the Project, it was confirmed that chloroquine-sensitive (wild type) Plasmodium falciparum is increasing. 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. Meanwhile, the Project carried out massive survey for the analyses of the mutation on the *K13* gene that is considered to be related to the resistance against artemisinin. The analysis results revealed that artemisinin-resistant protozoa from Cambodia spread gradually from southern to northern parts of the Lao PDR as humans moved, reaching the northernmost Pongsavath Province by the end of 2017. These results suggest a risk that artemisinin-resistant malaria may spread from Pongsavath Province of the Lao PDR to Yunnan Province of China. From these research findings and outcomes, it is demonstrated that it is of greater importance to implement active surveillance on multidrug resistant genes in the Lao PDR. As aforementioned, the Project has gained important research findings and outcomes on the mechanisms of the emergence and dissemination of the drug resistance malaria as of the time of the Terminal Evaluation. Those findings and outcomes were published in international journals as academic articles, one of which was published in a world-class prestigious journal. Those have also been supplied to relevant organizations as important evidences for advancing countermeasures against malaria in the Lao PDR, in the region and even globally. For these reasons, the achievement level of the Output 3 is deemed to be significantly high at the time of the Terminal Evaluation.

### (4) Output 4

Concerning malaria, the surveys and analyses on the endemicity, distribution and diffusion of the drug-resistant malaria have been carried out under the Output 1, 2 and 3. Regarding Schistosomiasis mekongi, the Project established the DNA detection method with high sensitivity and specificity in the IPL, and applied it to research on infection rates not only in humans but also vector snails and animals. The Project conducted a combined analysis of these infection rate results and geographic data from satellites provided through the Japan Aerospace Exploration Agency collaboration to create a risk map and to analyze risk factors for infection. Similarly, concerning Opisthorchiasis viverrini, and the Project developed the DNA detection method with high sensitivity and specificity, and used for the project research. It is worth noting that through the development of the DNA detection method for Opisthorchiasis viverrini, the Project revealed that the microscopic examination actually overestimated the prevalence of the disease by mis-distinguishing trematodes, which are morphologically similar to O. viverrini as O. viverrini to a certain extent. The research findings and outcomes obtained through these activities have been provided as convincing evidences not only to the MOH but also to the WHO and other organizations engaged in malaria

control in the Lao PDR and the region, and are used directly and indirectly for policymaking, surveillance and implementation of countermeasures.

It was not possible to construct a means for the prevention of infection of the inhabitants based on scientific evidence such as “*Position Deviance*” within the project period; nonetheless, the Project established DNA detection methods with high sensitivity and specificity in the IPL, which greatly contributed to functioning the Laos-Japan parasitology laboratory as a reference laboratory for those target diseases. Besides, the sharing of research findings and outcomes of the Project with stakeholders is deemed to directly contribute to the monitoring of the diseases in the Lao PDR. For these reasons, the Output 4 is considered to be largely achieved at the time of the Terminal Evaluation.

#### (5) Output 5

The Project has been advancing its activities with the emphasis on nurturing Laotian young researchers throughout the project period. As a result, the Laotian researchers became capable of planning field surveys, collecting samples and perform DNA analyses using advanced research instruments by themselves. Further, under the guidance of the JICA experts (researchers), they have been actively preparing abstracts and conference presentation slides in English and practicing presentations; as a result, some Laotian members made presentation of the project research orally in English at the National Health Research Forum. Meanwhile, the Project has offered basic and refresher training opportunities 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. In addition, the JICA expert (NCGM researchers) stationing in the IPL has been participating as an advisor in meetings on various infectious disease countermeasures held by the MOH, WHO and other partners, and continued to share technical advice and research findings and outcomes generously at meetings. In addition, the Project has provided direct support to the MOH by preparing implementation protocols for prevalence surveys and other activities, which may have contributed significantly to the capacity building of administrative officers and personnel in the national research institutes engaged in infection control in the Lao PDR.

As has been described, the Project has been offering various opportunities for capacity building for various human resources engaged in infectious disease countermeasure and research in the Lao PDR, and is expected to continue after the project period ends. Accordingly, the degree of achievement concerning the Output 5 is thought to generally be appropriate as of the time of the Terminal Evaluation.

#### (6) Project Purpose

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 Terminal Evaluation, and these findings have even been published as scientific papers. 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.

Meanwhile, concerning *Schistosomiasis mekongi* and *Opisthorchiasis viverrini*, development work on the LAMP-based DNA detection method had been completed from the technical point of view. All WHO member countries are required to strengthen the “preparedness” against infectious diseases, in accordance with the International Health Regulations (IHR), by preparing options for testing and diagnostic methods.

Accordingly, the Project established DNA detection methods that have high sensitivity and specificity with respect to such parasitic diseases, and significantly contributed to the IPL to function as the reference laboratory for the said diseases in the Lao PDR. Furthermore, the research findings and outcomes gained using those detection methods have been used as the evidences for the betterment of the infection control in the Lao PDR.

As has been described above, the Project has created a variety of research findings and outcomes that will contribute to the countermeasure of parasitic diseases in the Lao PDR. The IPL Laos-Japan Parasitology Laboratory, which is the main body of the project implementation, has already been built into the system of infectious disease control in the Lao PDR as a supplying body of scientific evidences and as an implementation organization of direct countermeasures, making it an indispensable existence. In view of the above points, the achievement of the Project Purpose at the time of the Terminal Evaluation is highly satisfactory.

### 3-2 Summary of Evaluation Results

#### (1) Relevance

The relevance of the Project has been highly maintained hitherto.

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 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. In the Strategic Plan, it is clearly mentioned that the CMPE of the MOH should introduce molecular diagnostic techniques to the provincial-level laboratories with the support of partner organizations as well as the IPL should take initiative to plan and implement the research on the drug-resistant malaria. These can be the results of the project’s efforts to demonstrate the necessity of addressing asymptomatic malaria cases and of researching the drug resistance; simultaneously, resulted in further enhancement of the relevance of the Project.

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 the Neglected Tropical Diseases 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. Furthermore, following the adoption of “*Global Action Plan on Antimicrobial Resistance (AMR)*” at the WHO General Assembly held in May 2015, Japan has strengthened its effort to promote international cooperation for the control of AMR. 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.

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. These research results have been published in a number of international journals as academic papers, and also, many presentations have been made by project members at domestic and international conferences (9 original articles published in international journals (Annex 7), 39 oral presentations at international conferences, 7 poster presentations and 18 oral presentations at conferences in Japan, as of October 2018). 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. As aforementioned, the Project has generated a number of research findings and outcomes that will contribute not only to the malaria control in the Lao PDR but also to the Greater Mekong Sub-region and even the global malaria countermeasures, and are practically used as evidences for the formulation of policies and action plans for malaria countermeasures. The IPL has also been contributing directly to the implementation of malaria countermeasures in the Lao PDR and the region. Therefore, the achievement level of the Project in malaria is very high in terms of both collaborative research and technical cooperation.

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, and they are used as sensitive, specific and reliable DNA diagnostics in the prevalence surveys conducted by the MOH and WHO. The MOH also calls for the IPL to function as a reference laboratory in these diseases from the perspective of IHR compliance. In addition, as with the malaria control countermeasures mentioned above, the JICA long-term expert (NCGM researcher) is assigned as a temporary member of the Advisory Committee on Parasitosis hosted by the MOH and WHO, and the Project has been continuing to share research findings and outcomes and providing technical advice throughout the project period. Thus, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the Project has also contributed to the infectious disease countermeasures the Lao PDR in a different way than originally assumed. Thus, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, the Project has also contributed to the infectious disease countermeasures the Lao PDR in a different way than originally assumed.

As aforementioned, 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 deemed that the Project Purpose has generally been accomplished at the time of the Terminal Evaluation.

### (3) Efficiency

The efficiency of the Project is high in general.

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. At the initiative of the JICA long-term expert (NCGM researcher) stationed in the IPL, the liaison and coordination of the research collaboration amongst the Japanese research institutes such as the UT, the UR, the TMDU and the Juntendo University. Meanwhile, the project coordinator has changed approximately one year before the end of the project period; nonetheless, the coordination work was properly taken over to the successor. Thus, the liaison and coordination amongst the whole players have adequately been continued throughout the project t period.

Meanwhile, it usually 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 Mid-term Review mission had observed that similar problems had happened in other IPL laboratories. In particular, the reagents with short expiration dates can be used in the experiment for a shorter period of time. Following the time of the Mid-term Review, the IPL has appealed to the relevant ministries and agencies for problem solving, but it has not been resolved even at the time of the Terminal Evaluation. In addition, the Project implemented researches following the acquisition of ethical clearance by the relevant authorities concerned both in Japan and the Lao PDR. Accordingly, the Project submitted research proposals to the National Ethics Committee for Health Research properly; however, it took, in many time, more-than-expected time for the Project to receive the results of the review by the Committee. Although these issues did not have a significant negative impact on achieving the Outputs and the Project Purpose, it negatively affected the smooth progress of the Project.

#### (4) Impact

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

The IPL Parasitology Laboratory has been operated as the Lao-Japan Joint Laboratory, and the researchers of the NCGM 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, and it is deemed that the capacity of those researchers has significantly been enhanced in comparison with that in the beginning of the Project. Moreover, the Laotian young researchers in the IPL sometimes accompanied the JICA long-term expert (NCGM researcher) to attend the various meeting opportunities at the national level, and experienced and learned the theory and practice of the infectious disease control as well as the practical application of research outcomes to the society. Having said that, it is recognized that they are still young researcher and less experienced to run and to maintain or even enhance the research capacity of the IPL Parasitology Laboratory by themselves; from the project-designing stage, it had not been anticipated to hand over the project research to the Laotian staff in the IPL Lao-Japan Parasitology Laboratory. Further, as has been mentioned, the IPL Lao-Japan laboratory is already regarded as a part of the implementation system of the infectious control in the Lao PDR, and the NCGM is decided to sustain the collaborative research in the IPL even following the termination of the Project; therefore, it is highly expected that the research activities will further be enhanced and expanded hereafter on the project's research outcomes and human resource development as a strong steppingstone.

On top of that, several positive impacts of the Project have been observed or expected as follows: 1) Efforts for the acquisition of the prequalification for the LAMP-based DNA detection method for the diagnosis of malaria through the collaboration between the NCGM and the *Eiken Chemical Co., Ltd.*; 2) Cooperative research with the *neopharma Japan Co., Ltd.* for research on antimalarial Activity of a substance; 3) Collaboration with the MOH and the Ministry of Agriculture and Forestry through the prevalence surveys on Schistosomiasis mekongi and the development to the "One-Health" approach; 4) Collaboration with the MOH and the Ministry of Agriculture and Forestry through the prevalence surveys on Schistosomiasis mekongi and the development to the "One-Health" approach; 5) Promotion of Inter-laboratory collaboration for cross-cutting research in the IPL; and 6) 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.

From the 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*". 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. The Japanese research organizations are anticipated to continue the joint research at the IPL even following May 2019 when the cooperation period is over. Effective infectious disease countermeasures have been implemented through various collaborations between research institutes and the governmental organizations. However, it is desirable that the MOH and other related organizations will provide more support to the implementation of joint research and the utilization of research findings and outcomes for policymaking, implementing countermeasures, etc. in the Lao PDR, even after the completion of the project period.

Concerning the financial sustainability, the NCGM has decided to continue the joint research at the IPL even after the end of the project period, by utilizing financial support from Japanese private companies as well as by acquiring the competitive research funds in Japan. The IPL also has commenced two projects financially-supported by the US Foundation, and some of these budgets have become available in all IPL laboratories since July 2018. Specifically, \$1,000 per month are provided for each IPL laboratory for the purchase of experimental consumables and is expected to continue for two years. Accordingly, the budget for maintaining collaborative research at the IPL is considered to be secured for the time being after the project period ended.

As for the technical aspect, the NCGM has decided to continue collaborative research at IPL after the completion of the Project. The research and testing technologies provided through the Project will continue to remain in the IPL, and research results and technical advice will also be shared with relevant organizations engaged in infectious diseases control in the Lao PDR in a sustainable manner. On the other hand, the Laotian researchers have enhanced their capacity in comparison with that at the beginning of the Project, however, the efforts for capacity development should be continued with a long-term point of view.

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

#### (1) Concerning the project design

None in particular.

#### (2) Concerning the implementation process of the Project

At the time of the interviewing opportunities, 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 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.

On the basis of the establishment of such relationship of mutual trust and collaboration amongst the stakeholders through the implementation of the Project, the Project has been providing the scientific evidences for policymaking, cooperating by providing testing services, receiving the funding support from partner organizations, implying the ideal collaboration has been continued from the technical and financial standpoint. Simultaneously with the implementation of project research activities, the Project has been putting efforts to apply the research findings and outcomes to the policy making, countermeasure, etc. as well as to establish the relationship of mutual trust and cooperation with relevant organizations. As a consequence, the Project has made a great contribution to the infectious disease control in the Lao PDR; at the same time, the effectiveness of the Project was enhanced significantly.

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

#### (1) Concerning the project design

None in particular.

#### (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. The IPL has been calling for the improvement of this issue to the relevant governmental agencies such as the Ministry of Health and the Ministry of Finance throughout the project period; nevertheless, nothing has resolved as of the time of the Terminal Evaluation. 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 Terminal Evaluation Mission confirmed that "*Relevance*" of the Project has highly been maintained, and that "*Effectiveness*", "*Efficiency*", and "*Sustainability*" were also generally high. The Project has also created a number of positive "*Impact*" as of the time of the Terminal Evaluation; thus, it is expected to contribute significantly to the countermeasure of malaria and parasitic diseases in Lao PDR in future.

In particular, the Project has established the cooperative relationships with relevant ministries, national agencies and other partner organizations by providing scientific evidences and technical advices as well as by assisting the national surveys, which are beneficially utilized for the infectious disease countermeasures in the Lao PDR. Under such liaison and cooperation, the Project also proceeded various project activities to date. As the result, various scientific research results have been created, and it has directly contributed to the infectious disease countermeasure in the Lao PDR.

With regard to malaria, as a result of the establishment of cooperative relationship with local health professionals through the provision of technical training to them, the Project obtained sufficient number of clinical samples from malaria suspected patients and analyzed them proactively; consequently, the Project revealed that the present state of asymptomatic malaria carriers, which is recently regarded to be important for strengthening the initiatives for malaria elimination. In addition, the important research findings and outcomes on the emergence and diffusion of the drug-resistant malaria are gained, which had impacted to the commencement of novel international research collaboration (supervision) for preventing from crossing border.

On the other hand, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini research, the Project had developed DNA detection methods based on the novel gene amplification technology, and the developing work for the methods has largely been completed from a technical standpoint within the cooperative period. These DNA detection methods are established as diagnostic methods in the IPL, enabling the IPL to function as a reference laboratory for these diseases, and are also used for the national prevalence surveys conducted by the MOH.

These research findings and outcomes are disseminated to the world through the publications of research articles in international journals, and many presentations has also been made at academic conferences. Thus, the achievement of the Project from an academic standpoint is very large. Besides, by taking the opportunities of field sampling activities, the Project has been providing health education regarding the prevention of infectious diseases geared to community residents jointly with the health professionals, resulted in the steady contribution to the community health. The Project has also consistently addressed the fostering of Laotian young researchers through its research activities, and the staff of the IPL Lao-Japan Parasitology Laboratory has reached the level where they can make oral presentations in English at domestic and international

conferences at the time of the Terminal Evaluation. Though further self-study and continuation of guidance from Japanese researchers are also required to stand alone as researchers, it is deemed that the Project has made a significant achievement from the viewpoint of JICA's technical cooperation.

Even after the completion of the Project, Japanese research institutes are supposed to continue international joint research at the IPL by utilizing research funding from companies and scientific research grants in Japan. The Japanese research institutes will move on to the preparations for the acquisition of WHO pre-certification for the LAMP-based malaria DNA diagnostic kit, detailed research on asymptomatic malaria carriers, and further, novel research on the substance with antimalarial activity. Those international collaborative researches are also anticipated to continuously contribute not only to scientific research outcomes but also to the countermeasure of infectious diseases in the Lao PDR hereafter.

### 3-6 Recommendations

#### (1) To the Project

##### 1) Promotion of the "One-Health" approach

The Project had gained an experience of inter-sector collaboration with the Ministry of Agriculture and Forestry, such as the implementation of the joint survey. From the aspect of the significance of the collaboration with other organizations, it is anticipated that this kind of cross-sectoral activities such as the regular cross-sectoral meeting become widely be done, in order to promote the "One-Health" approach.

##### 2) The effort to explanation of the practical operational procedures at the time of introduction of LAMP detectors

The Project is planning to introduce another five LAMP detectors to district health facilities in the areas of high malaria endemicity, and continue accumulating clinical cases even following the completion of the Project. At the time of introduction, it is necessary that the Project should put efforts to publicize the performance and utilization of the kit to the local stakeholders; at the same time, to introduce the practical operational procedures of the testing services, such as algorithms for selecting eligible patients for genetic diagnosis by LAMP method and specimen transfer method, etc.

Meanwhile, the Project experienced that LAMP reagents under storage could easily deteriorate with moisture, enough to affect the measurement results as false positive, in usual environment of laboratories in the Lao PDR, and the problem can happen in hot and humid malaria-endemic areas such as Southeast Asia and Africa where the LAMP-based malaria DNA detection methods were expected to be used. Though the current reagent packaging would not cause any problem of the testing results in the usage of mass survey of asymptomatic malaria carriers, it is recommended for the Project, jointly with the *Eiken Chemical Co., Ltd.*, to resolve the problem by improving the "Product", such as individual packaging of reagents, in consideration the usage in practical clinical settings.

#### (2) To the MOH

##### 1) Improvement of internal quality control system in local clinical laboratories

Capacity of local laboratory staff has significantly been enhanced through the implementation of the Project, it is confirmed that a problem concerning the quality control toward laboratory testing results from the LAMP-based DNA detection method for diagnosing malaria, introduced by the support of the Project. In particular, the Project, with the support of the *Eiken Chemical Co., Ltd.*, developed and introduced the Standard Operating Procedure (SOP) for the said testing by providing the staff with its training; nevertheless, it is found that there is no monitoring mechanism for the compliance of the SOP. This is regarded not only the issue of the Project but also a challenge of the clinical laboratories in whole country; therefore, it is recommended that the NCLE, in charge of laboratory quality control and assurance, will take action for the construction and even improvement of the Internal Quality Control (IQC) mechanism immediately.

2) Coordination with related development partners for effective trainings

Regarding the training on communicable diseases for the lab staffs and officers in rural area which was provided by the Project, the Department of Communicable Disease Control and other relevant departments within MOH should continue to work closely and coordinate with WHO and other partners which are conducting various trainings, in order to make them more effective without duplication.

3) Improvement of the situation regarding the certification of tax exemption for reagents, research instruments and equipment.

When reagents, 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.

Having said that, it is acknowledged that this issue cannot be solved by the MOH alone but is regarded as a complex issue involving the Ministry of Finance, the Ministry of Planning and Investment, and other relevant agencies. Not only all laboratories in the IPL but also any research institutes engaged in the infectious disease control in the Lao PDR are being affected by the issue. In other words, the relevant ministries and agencies should acknowledge the negative impact of the issue on infectious disease countermeasures in the Lao PDR, and are expected to make further efforts to resolve the issue, at the initiative of the MOH, by convening inter-ministerial consultations and so on.

4) Smooth implementation of ethical review for the research proposal

The Project implemented researches following the acquisition of ethical clearance by the relevant authorities concerned both in Japan and the Lao PDR. Accordingly, the Project submitted research proposals to the National Ethics Committee for Health Research properly; however, it took, in many time, more-than-expected time for the Project to receive the results of the review by the Committee. The Project sometimes have to put a special consideration for the timing of survey especially for malaria and Schistosomiasis mekongi, thus, the Committee is recommended to improve this situation for smooth implementation of ethical reviewing.

5) Further cooperation to promote international joint research work in IPL with Japanese research institutes

The Japanese research organizations such as NCGM are anticipated to continue the joint research at the IPL even following May 2019 when the cooperation period is over. MOH should provide more support to the implementation of joint research and the utilization of research findings and outcomes for policymaking, implementing countermeasures, etc. in the Lao PDR, because of the importance of IPL as the national referral laboratory for the investigation of parasitic diseases and for provision of evidences for policy making and as a cooperation agency for national surveys. It is expected that the MOH will involve Lao and Japanese researchers to participate in conferences on countermeasures for infectious diseases and promote the utilization of research findings more actively.

(3) To the Lao young researchers

1) 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 continue self-help efforts even following the termination of the Project further, such as reading more English papers, holding journal club, capturing novel scientific information, obtaining Ph.D. degree in the future, and increasing other options for capacity enhancement.

3-7 Lessons Learnt

(1) Significance of proactive information sharing with stakeholders in light of the practical application of the research findings and outcomes to society

This project, with the full-understanding of the scheme objectives of the SATREPS, has been providing scientific evidences on malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini to relevant organizations such as the MOH and WHO in a timely and effective fashion. The JICA long-term expert (NCGM researcher), stationed in the Lao PDR, has been participating countermeasure meetings at various levels in Lao PDR, and not only sharing information but also providing advices from a professional perspective and coordinating collaborative countermeasure activities, contributing greatly to the control of infectious diseases in Lao PDR and even the Greater Mekong Sub-region, thereby maximizing the relevance, effectiveness and impact of the Project.

Many research institutions such as universities do not disclose research findings and outcomes until it is published in academic journals or other publications in order to maintain the confidentiality of their research results. Having said that, the principle of SATREPS is the practical application of research outcomes to society; therefore, projects are required to promote the information sharing and collaboration with future users (e.g. governmental authorities) of the research outcomes even within the project period as well as to provide necessary assistances in a timely manner, in order to fulfill the said principle.

(2) Allocation of resident researcher(s)

In the Project, one researcher from a Japanese implementing organization was stationed in the Lao PDR, and not only the implementation of international joint research but also managerial affairs with related organizations were conducted exclusively. The establishment of such an implementation system enabled the smooth construction of a research system and the development of human resources as a technology cooperation project, and also led to technical assistance to the Lao government and international organizations in a timely manner. Since the social application of research findings and outcomes has strongly been taken into account in SATREPS, it is recommended for SATREPS projects to allocate researcher(s) stationed in the host country as much as possible to enhance the effectiveness of international joint research, and to promote information sharing and collaboration with not only the host country but also international organizations in the region, while giving due consideration to the confidentiality of research results.

3-8 State of the follow-up

# 第1章 終了時評価の概要

## 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」と記す）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。

かか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」と記す）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。

今回実施する終了時評価調査では、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評価した。また、評価結果に基づき、支援期間内に着実にプロジェクト目標を達成することや、プロジェクトの達成事項の持続性を強化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 終了時評価の目的

終了時評価の目的は以下に示すとおりである。

- (1) 最新のプロジェクト・デザイン・マトリックス（Project Design Matrix : PDM）（version 1）〔付属資料の協議議事録（Minutes of Meetings : M/M）の APPENDIX Annex 1〕に基づいてプロジェクト全体としての進捗をレビューし、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) 終了時評価報告書に調査結果を取りまとめる。

## 1-3 終了時評価調査団のメンバー

終了時評価は、JICA 側 3 名の評価メンバーがラオス側関係機関と協議しながら合同で実施した。終了時評価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）<sup>1</sup>は、JICAの実施する終了時評価調査と同時に1名の調査団をラオスにおける現地調査に派遣し、独自の終了時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。

<日本側>

| 氏名    | 担当業務  | 所属                           | 現地派遣期間          |
|-------|-------|------------------------------|-----------------|
| 金井 要  | 団長・総括 | JICA 人間開発部 技術審議役             | 2018年10月14日～20日 |
| 前田 紫  | 協力企画  | JICA 人間開発部保健第2グループ保健第4チーム 職員 | 2018年10月14日～20日 |
| 井上 洋一 | 評価分析  | (株)日本開発サービス調査部 主任研究員         | 2018年10月2日～20日  |

<AMED 団員>

| 氏名    | 担当業務  | 所属                   | 現地派遣期間          |
|-------|-------|----------------------|-----------------|
| 石井 克美 | 計画・評価 | AMED 国際事業部国際連携研究課 主幹 | 2018年10月14日～20日 |

現地調査は2018年10月2日から2018年10月20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（Annex 2）。

#### 1-4 プロジェクトの枠組み

(1) 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とおりである。
  - ・プロジェクト・ダイレクター：保健省 CMPE センター長
  - ・プロジェクト・マネージャー：(保健省)ラオス国立パスツール研究所 (Institut Pasteur du Laos : IPL)<sup>2</sup>所長
  - ・チーフ・アドバイザー：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示す。
  - ① ラオス側：保健省、CMPE、IPL (ラオス側代表機関)、ラオス熱帯医学公衆衛生研究所 (Lao Tropical and Public Health Institute : Lao TPHI)、国家ラボラトリー・疫学センター (National Center for Laboratory and Epidemiology : NCLE)
  - ② 日本側：NCGM (日本側代表機関)、東京大学、琉球大学、順天堂大学、東京医科歯科大学
- 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)<sup>3</sup>

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づけられている。

3 ラオスの総人口の約 60% をカバーしている。

## 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) を以下に示す。

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、Annex 1 として添付した PDM version 1 を参照のこと。

## (2) プロジェクトの要約

### 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) 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員 (中間宿主)、タイ肝吸虫媒介員 (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員 (中間宿主)、タイ肝吸虫媒介員 (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・取得する。
- 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。
- 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<sup>4</sup>を経時的に作成する。
- 2-3-3. クラスター解析<sup>5</sup>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 *pfert* 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。

---

4 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。

5 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 終了時評価の方法

### 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 評価手法

終了時評価は「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（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（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）の常法にのっとり、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。終了時評価・チームは、評価結果を終了時評価報告書に取りまとめた。

### 2-3 評価5項目

本終了時評価に用いた評価5項目の概説を以下に示す。

| 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。終了時評価での妥当性評価は、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。終了時評価での有効性評価は、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。終了時評価での効率性評価は、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。終了時評価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   | 援助が終了したあとも、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。終了時評価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。                |

#### 2-4 PDM version 1に基づいて成果及びプロジェクト目標達成度測定を行ううえでの制限

既述の JICA ガイドライン等にしたいが、成果及びプロジェクト目標の達成度測定は最新の PDM に沿って実施する。しかしながら、中間レビュー時に日本側評価ミッションは PDM version 1 がプロジェクトのスコープを正確に表現できていないことを確認した。

具体的には、本プロジェクトの対象疾患はマラリア、メコン住血吸虫、タイ肝吸虫の 3 つであるが、それぞれで研究のスコープ（何をどこまで実施するか）が異なる。したがって、成果は対象病原体で整理する必要があるが、PDM version 1 では、対象 3 病原体すべて同じレベルの研究の範囲であるような表現とされているため、実際に実施することと PDM で規定する研究の範囲に齟齬が生じる場合が多く確認されている。一例を挙げれば、プロジェクトでは対象 3 病原体それぞれで PCR 法及び LAMP 法を用いた遺伝子検出法を開発する（成果 1）が、それらすべてを地方のフィールド・ステーションに導入する（成果 4）ように PDM version 1 では規定されているが、疾患の疫学的特性やラオスにおける検査施設の現状や運用を考慮すると、LAMP 法によるマラリア遺伝子検査法のみが県レベルのフィールド・ステーションへの導入の適用となる。すなわち、PCR 法を用いたマラリア、メコン住血吸虫、タイ肝吸虫の遺伝子検査法、LAMP 法を用いたメコン住血吸虫、タイ肝吸虫の遺伝子検査法は地方部のフィールド・ステーションへの導入の適用にならない。ほかにも、成果やプロジェクト目標に対する指標の幾つかは、適切に達成度を測定するための尺度として使用できないことが中間レビュー時に確認された。

このようなレビュー結果に基づき、中間レビュー調査チームはプロジェクトや JICA 等の関係機関に向けて、PDM の改定を報告書の中で提言した。これを受け、プロジェクトをはじめ関係機関は PDM 改定のための作業、手続きを開始したものの、種々の理由によって実現しなかった。プロジェクトの共同研究活動のスコープ自体は研究者間ではコンセンサスが得られていることから、PDM が改定されなくても研究活動の実施には大きな支障がないこともあり、終了時評価調査でも PDM version 1 に基づいた評価を行うこととなった。

したがって、終了時評価では中間レビュー同様、PDM で規定される各病原体の研究範囲や指標は参考にしながら各種の周辺情報を加味し、「プロジェクトが本来めざしている研究成果やラオスの感染症対策に資する状態に到達しているか」との観点で、プロジェクトの達成度の評価を行うこととした。

## 第3章 プロジェクトの実績と実施プロセス

### 3-1 投入

#### (1) 日本側投入実績

以下に、2018年9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 Annex 5 を参照のこと。

| 構成             | 投入  |
|----------------|---|
| 日本人専門家の派遣      | 長期専門家：合計4名（寄生虫学研究：1名、業務調整：延べ3名）、<br>101人・月<br>短期専門家：延べ73名、15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 システムほか（合計 67,336,067 円）  |
| カウンターパート研究者の来日 | 合計人数：延べ9名<br>協議内容：研究成果の共有や研究計画の協議等（合計 61 日間）  |
| 本邦研修           | 合計人数：5名<br>研修内容：<br>・マラリアの診断技術、薬剤感受性試験、遺伝子解析に関する本邦研修（4名、NCGM 研究所、1カ月）<br>・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：81,336,000 円<br>・2014 年度：8,779,000 円<br>・2015 年度：19,644,000 円<br>・2016 年度：18,813,000 円<br>・2017 年度：18,108,000 円<br>・2018 年度：15,992,000 円（見込額） |

#### (2) ラオス側投入実績

以下に、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。詳細については Annex 5 を参照のこと。

| 構成         | 投入   |
|------------|--|
| カウンターパート配置 | 合計 20 名<br>1. 保健省：9 名<br>2. IPL：6 名<br>3. CMPE：2 名<br>4. Lao TPHI：2 名<br>5. NCLE：1 名<br>内訳：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 |
| 施設及び資機材    | 1. 施設・土地：IPL 内研究スペース及び事務スペース<br>2. 機材：IPL 及び県 CMPE における既存の研究機器<br>3. その他：保健省及び IPL が保有する研究関連情報、データ及び検体   |
| 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係る JICA 負担分以外の IPL 負担分の合計額：約 19,589,044 円 <sup>6</sup>  |

<sup>6</sup> 2018年8月 JICA 統制レートを使用して計算。

### 3-2 プロジェクトの実績

#### (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。

| 【成果1】マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症 <sup>7</sup> 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。  | <ul style="list-style-type: none"> <li>・2015年2月までにIPLのラオスー日本寄生虫ラボ及び本プロジェクトで使用する実験室に討議議事録（Record of Discussions：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シーケンサーとPCR機にUPS（無停電電源装置）を設置した。</li> <li>・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。</li> <li>・またプロジェクト車両も調達し、2016年8月からフィールド調査に活用している。プロジェクト車両購入前や2台以上必要な場合は、レンタカーを使用している。</li> <li>・ラオスー日本寄生虫ラボ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。</li> <li>・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。</li> <li>・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うえ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。</li> <li>・中間レビュー時点で確認された課題として、ラオスー日本寄生虫学ラボ、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た。そこで2017年5月から6月にかけて、屋上改修工事を実施した。本プロジェクトで使用する実験室の占有面積に基づき、改修工事費用の半額をプロジェクト予算から支出した。</li> </ul>   |
| 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。  | <ul style="list-style-type: none"> <li>・2014年6月から2018年9月までに、IPL、CMPE、並びに各県保健局（Provincial Health Offices：PHOs）とともに計36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、イヌやウシ、水牛のような家畜）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（貝・魚）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（ラオスー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。</li> <li>・マラリアが多いラオス南部の5県（サバナケット、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）、合計156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。さらに、2017年11月から、北部ポンサリー県の県病院、郡病院、保健センターの合計8医療施設からも、マラリア疑い患者血液検体収集方法を導入した。</li> <li>・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ことから、以上のことよって、広範囲かつ経時的にマラリア流行地域からマラリア疑い患者からの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するとともに、能力強化にも貢献した。</li> <li>・2018年9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39,176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。</li> </ul> |

7 これらの病原体の生活環は Annex 6 を参照。

|   |   |
|---|---|
|   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2018年9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3,920名の住民から糞便検体を採取し、合計2,677名から血液検体を採取した。また世界保健機関（World Health Organization：WHO）からの要請により、チャンパサック県で動物を対象としたメコン住血吸虫症を2018年に3回実施した。この調査で合計707匹の動物（水牛、ウシ、ブタ、イヌ、ヤギ）から血液検体を、合計703匹の動物から糞便検体を採取した。</li> <li>• また、ラオス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、ELISA法でメコン住血吸虫抗体陽性者の有無を検査した。2017年5月から8月にも、同様の調査をした。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のイニシアチブのもと、ラオス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。</li> </ul>  |
| <p>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。</p>                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2018年9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39,176検体のうち36,564検体のDNA抽出がIPL、並びにNCGMで実施された。プロジェクト期間終了まで、検体の追加と平行してDNA抽出を行う予定である。NCGMでも解析を実施する理由は検体数が非常に多いためであり、検体の移動はIPL-NCGM間の物質移動合意書（Material Transfer Agreement：MTA）に基づいて行っている。</li> <li>• 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1,230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）。</li> </ul>   |
| <p>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。</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• チャンパサック県コーン郡での2015年から2018年にかけて毎年4月にメコン住血吸虫媒介貝（<i>Neotricula aperta</i>）の調査を実施した。採取した貝の数は以下のとおりである。2015年1,975匹、2016年3,115匹、2017年5,500匹、2018年5,000匹。</li> <li>• <i>N. aperta</i>には<math>\alpha</math>、<math>\beta</math>、<math>\gamma</math>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<i>N. aperta</i>はガンマ株のみであることが明らかになった。</li> <li>• タイ肝吸虫媒介貝（第一中間宿主）（<i>Bithynia siamensis</i>）は終了時評価時点では採取を行っていないが、2018年9月以降にカムアン県あるいは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<i>B. siamensis</i>の種の同定を実施し、2019年4月までには解析が完了する見込みである。</li> <li>• 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。このメタセルカリアからDNAを抽出し、タイ肝吸虫LAMP法を用いた遺伝子検出を試みた結果、タイ肝吸虫DNAは検出されず、このタイ肝吸虫様メタセルカリアはタイ肝吸虫ではないと判定された。</li> <li>• 2017年4月と6月にプロジェクトはカムアン県ニョンマラート郡の市場で購入した75匹の淡水魚の筋肉から96匹のメタセルカリアを採取した。これらについてLAMP法を用いてタイ肝吸虫DNA検出を試みたところ、タイ肝吸虫と同定されたのはわずか4匹だけであった。最終的にその他の42匹が<i>Haplorchis taichui</i>であることが判明したが、残り28匹のメタセルカリアはタイ肝吸虫でも<i>H. taichui</i>でもない寄生虫であり、その種は同定できなかった。</li> <li>• タイ肝吸虫の流行地域には、<i>H. taichui</i>のほかにもタイ肝吸虫と類似した虫卵を排出する複数の寄生虫（吸虫類）がいることが報告されており、それらはまとめて「minute intestinal flukes（小さな腸内吸虫）」と呼ばれている<sup>8</sup>。「minute intestinal flukes」は、タイ肝吸虫のように胆管ガンの原因にはならない比較的良性的な寄生虫感染だといわれているが、不明な点も多く感染と病態との研究が必要である。</li> </ul> |

8 Yoon et al., Am J Trop Med Hyg, 2014, 91:384-388; Vonghachack et al., Infect Dis Poverty, 2017, 6:131; Araki et al., Trop Med Health, 2018, 46: 29.

|   |  |
|---|--|
| <p>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。</p> | <p>&lt;メコン住血吸虫症について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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 15,590 匹は IPL と東京医科歯科大学の MTA のもとで東京医科歯科大学に移送し、中間レビュー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。</li> </ul> <p>&lt;タイ肝吸虫症について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>同様に、東京医科歯科大学において従来法（アルカリーボイル法）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、魚の筋肉から採取したメタセルカリアから DNA 抽出を実施し、LAMP 法による種同定の方法も確立した。</li> <li>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、ラオス保健省（DCDC）及び CMPE 主導のもとで県、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）（<i>B. siamensis</i>）の採取と DNA 抽出は終了時評価以降に実施する予定である。少なくとも一つのタイ肝吸虫症流行地域で貝から採取したメタセルカリアの DNA 診断による種の同定を行い、貝のタイ肝吸虫感染率をプロジェクト期間内に明らかにする予定である。</li> </ul>   |
| <p>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。</p>                   | <p>&lt;マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>マラリアに関して、NCGM にてミトコンドリアゲノムの <i>cox1</i> 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。</li> <li>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 2016 年に CMPE、県保健局（ルアンパバーン、サバナケット、チャンバサック）に導入した。プロジェクトは 2017 年と 2018 年にそれら 3 カ所の県保健局への技術的フォローアップ活動を実施した。具体的には使用状況と手技の確認を行い、何らかの問題があればそのトラブルシューティングを実施した。一例を挙げると、LAMP 法によるマラリア遺伝子検出法を実施した際、陰性コントロールを含むすべての検査結果が陽性となる事例が 3 つの県すべてで確認された。栄研化学の専門家と IPL スタッフが現地へ訪問し確認を行ったところ、現地スタッフの手技や操作の問題を確認したため、現地スタッフへ対策や注意事項の指導を行ったところ、問題は解決した。臨床検体を用いてマラリア LAMP 法に基づくマラリア DNA 検出法の臨床性能試験にかかわる学術論文を終了時評価時点で論文掲載が決定している。</li> </ul> <p>&lt;メコン住血吸虫症について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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 <i>cox1</i> 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。</li> </ul> <p>&lt;タイ肝吸虫症について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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 <i>cox1</i> 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 47.1%であった。中間レビュー時、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</li> </ul> |

|   |   |
|---|---|
|   | <p>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た。そこで中間レビュー以降は、これら仮説を踏まえ詳細な検討を行ったところ、活動 1-3-1 に記載したとおり、顕微鏡診断ではタイ肝吸虫陽性率を過大評価していた可能性が高く、LAMP 法によるタイ肝吸虫遺伝子検査法は正しい結果を出している可能性が高いことが示唆されている。</p>                |
| 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。 | <ul style="list-style-type: none"> <li>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、ラオス国内で全国保健研究フォーラムで発表した。</li> <li>カムアン県ニョンマラート郡での最初の調査結果について、プロジェクトは国際学術雑誌に発表した<sup>9</sup>。</li> </ul> |

| 【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を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。                | <p>&lt;マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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。また、ラオス保健省が活用しているブラウザー・ベース・アプリケーションの地域保健情報システム（District Health Information System 2 : DHIS2）のアクセス権を JICA 長期専門家が取得し、日々のマラリア発生状況を研究の一環としてモニタリングを実施している。さらに、毎月 WHO ラオス事務所で開催されるマラリア対策会議で関係者が集まり、DHIS2 のマラリア患者数情報を確認し、今後の対策活動の計画等を協議している。2017 年 11 月には、この DHIS2 の情報に基づきサバナケット県ノン郡のマラリアアウトブレイクを CMPE と WHO が検出し、早期封じ込めのためのレスポンスがなされた。</li> <li>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。</li> <li>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みえる可能性がある。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の比率は増加傾向にある。</li> </ul> <p>&lt;メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>タイ肝吸虫症とメコン住血吸虫症に関しては、ラオス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、Lao TPHI 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づけられた。</li> <li>また、2016 年から WHO のイニシアチブのもとメコン住血吸虫症根絶に向け WHO とラオス保健省（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 寄生虫病研究室と国家公衆衛生研究所（National Institute of Public Health : NIOPH）のチームがラオス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</li> </ul> |

<sup>9</sup> Araki et al., *Mothers' Opisthorchis viverrini infection status and raw fish dish consumption in Lao People's Democratic Republic: determinants of child infection status*. Trop Med Health, 2018, 46: 29.



|   |   |
|---|---|
|   | <p>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 寄生虫学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、2018年も実施されており、本プロジェクトも IPL のメンバーとして調査に参加している。この調査でプロジェクトは血液検体のろ紙採血及び ELISA 法による検査を担当している。IPL はラオスのメコン住血吸虫症排除 (elimination) の対策メンバーであり、本プロジェクト終了後も IPL 寄生虫学研究室が ELISA 法による検査を継続する計画である。本プロジェクト終了後も IPL 寄生虫学研究室は、NCGM と日本企業とのラオスにおける共同研究により維持される見込みである。</p>  |
| <p>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。</p>              | <p>&lt;マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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。保健省やマラリア対策にかかわっている NGO が主体となって DHIS2 の活用を促進するとともに、流行地域の担当官（県保健局・郡保健局職員）を対象とした研修を実施したとて、保健情報の報告率は改善している。しかしながら、毎月1回の報告が遅れる医療施設もあり、改善が望まれる。なお、DHIS2 の活用やデータの信頼性に関してはプロジェクトのスコープ外であり、改善に向けた取り組み等はプロジェクトとして実施していない。</li> </ul> <p>&lt;メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>活動 2-1 で示したとおり、タイ肝吸虫症とメコン住血吸虫症に関してはラオス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、Lao TPHI が研究ベースで収集した情報である。2016年以降、メコン住血吸虫症に関しては WHO の支援のもとラオス保健省が主体となって定期的な流行状況調査を実施している。具体的には、選定した7つの Sentinel site（村）において、毎年住民200名（子供100名・大人100名）の感染率を調査している。これに加えて、毎年ランダムに選定した10村を同様の手法で調査（Spot check site villages）している。本プロジェクトもこの調査に協力しており、具体的には、ELISA 法による抗体検査を実施し、流行地域住民のメコン住血吸虫罹患率を推定するとともに、無作為抽出サイト（2村）の調査（Kato-Katz 法による糞便検査と ELISA 法による抗体検査）を担当している。</li> <li>プロジェクトでは、Lao TPHI のデータに基づいて研究対象サイトを選定している。</li> </ul> |
| <p>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。</p>         | <p>&lt;活動 2-3 の目的について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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な変化を明らかにするために①分子系統解析、②eBURST 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。</li> </ul>   |
| <p>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。</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>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。</li> </ul>  |
| <p>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。</p>                 | <p>&lt;マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>マラリアに関してはプロジェクト開始から現在にいたるまで、主に検体の効率的な収集方法の確立を行っており、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、薬剤耐性マラリアの実態などの調査を中心に実施している。その結果、プロジェクトはマラリア流行地域には無症候性感染が多</li> </ul>  |

|   |  |
|---|--|
|   | <p>く存在すること、三日熱マラリア感染が多いこと、成人男性のマラリア感染が多いことなどを明らかにした。また、ラオスにおいては森林での活動がマラリア感染の主要な危険因子であることも明らかにした。それらの調査・研究成果は既に国際学術雑誌に掲載されており、終了時評価調査時点でも投稿中の論文もある。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• また、2010年と2013年にサバナケット県セボン郡で採取された熱帯熱マラリア原虫集団について、マイクロサテライトDNAマーカーを用いた解析を実施し、採取年度による原虫集団の遺伝的な違いがあるかを調査したが、有意な違いは観察されなかった。現在、2017年にサバナケット県ノン郡で発生したマラリア・アウトブレイク時のマラリア原虫検体について、マイクロサテライトDNAマーカーを用いた集団遺伝学的解析を実施中である。この解析結果は、プロジェクト期間終了までに論文として取りまとめ、国際学術誌に投稿する予定である。</li> <li>• 他方、既存のマラリア患者検体を用いて分子系統解析を実施した結果、プロジェクトはラオスで初のサルマラリア原虫のヒト感染症例を明らかとし、その成果を国際学術誌に発表した<sup>10</sup>。</li> <li>• さらに、プロジェクトはラオスを含む大メコン圏の熱帯熱マラリアにおけるクロロキン耐性遺伝子 (<i>pfcr1</i>) とその近傍のマイクロサテライトDNAを分子マーカーとして用いた集団遺伝学的解析を実施した結果、87%の検体にクロロキン耐性遺伝子変異が確認された。プロジェクトはこの結果も学術論文として取りまとめ、国際誌に発表した<sup>11</sup>。</li> </ul> <p>&lt;メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• メコン住血吸虫に関しては陽性検体が少なく、これまでのところ、プロジェクトで調査した2,938糞便検体のうち、陽性となったのは顕微鏡検査で25例、LAMP法で10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明らかとなった。</li> <li>• タイ肝吸虫に関しては、中間レビュー後、LAMP法によるDNA検出方法の確立を行った。その結果、タイ肝吸虫感染の顕微鏡検査に基づく感染率は過大評価である可能性が示唆された。このように、タイ肝吸虫に関しては真の感染率が明らかでないことから、現時点では集団遺伝学的解析を実施する段階に到達していない。</li> </ul> |
| <p>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。</p> | <p>&lt;マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 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法の基づく迅速診断テスト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。 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 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、迅速診断テストで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。</li> <li>- 2015年5月にアッタプー県で719名の住民を調べた結果、顕微鏡検査で3名陽性、迅速診断テストで5名陽性であったのに対し、PCR法では47名が陽性であった (熱帯熱マラリア陽性4名、三日熱マラリア陽性41名、熱帯熱マラリアと三日熱マラリアの混合感染2名)。しかもこの47名中、37.5°C以上の発熱が認められたものは1名のみで、何らかの症状を呈したのもわずか31.9% (15/47) であった。残りの68.1% (32/47) は無症候性キャリアであった。また66.0% (31/47) は成人男性であった。</li> <li>- 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、迅速診断テストで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。</li> </ul> </li> <li>• 以上のことから、①PCRによる遺伝子検出法は顕微鏡検査や免疫クロマト法</li> </ul>  |

10 Iwagami et al., *First case of human infection with Plasmodium knowlesi in Laos*. PLOS Negl Trop Des, 2018, 12:e0006244.

11 Iwagami et al., *Pfcr1 genotypes and related microsatellite DNA polymorphisms on Plasmodium falciparum differed among populations in the Greater Mekong Subregion*. Parasitol Int, 2018.

|   |   |
|---|---|
|   | <p>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。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>これらの研究結果は常にラオス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<sup>12</sup>は 2016 年に、2015 年のアッタプー県の調査結果<sup>13</sup>は 2017 年に国際学術雑誌に発表している。</li> </ul> <p>&lt;メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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。また、2017 年 4 月の同地域での調査で媒介貝の生息地 6 カ所を特定し、そのうち 2 カ所でメコン住血吸虫に感染した媒介貝を確認した。</li> <li>タイ肝吸虫症については、感染した淡水魚を生で食することによる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、のち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。</li> <li>上記のとおり、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」解明することが困難であると考えられる。</li> </ul>   |
| <p>2-4-2. ラオスで新興してきているヒト <i>Plasmodium knowlesi</i>（サルマラリア）感染の遺伝疫学的調査を実施する。</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>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（<i>Plasmodium knowlesi</i>）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ア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が高い。</li> <li>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。中間レビュー以降、2015 年から 2016 年にかけて、南部 5 県の医療施設から採取された 2,698 検体について、PCR 法によるスクリーニングを行った結果、アッタプー県の 1 検体がサルマラリア原虫陽性であることが明らかとなった。さらに確定するために 2 つの遺伝子領域の DNA 塩基配列を同定し、分子系統樹解析を実施した結果、この検体がサルマラリア原虫であることを確定した。これはラオスで初のサルマラリア原虫のヒト感染症例である。この成果は 2018 年、PLOS Neglected Tropical Diseases に報告した。なお本症例は、迅速診断テストの結果、三日熱マラリア陽性と診断された。一般的にサルマラリア（<i>P. knowlesi</i>）は、遺伝的に三日熱マラリア原虫と類似していることから、迅速診断テストの結果だけでなく PCR 法でも三日熱と間違えて診断される場合があることが知られている。おそらく、ラオスで三日熱マラリアと診断されている症例の中には、本当はサルマラリア原虫感染である症例が混在していると推察される。</li> <li>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。本プロジェクトでも上記のとおりサルマラリア原虫のヒト感染症例を確認し、ラオスにおいてサルマラリアもヒトへの感染リスクがあることを明らかとした。サルマラリア原虫のヒト感染は重症化する場合があります、マレーシアでは死亡例も多数報告さ</li> </ul> |

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

13 Iwagami M. et al., The detection of cryptic Plasmodium infection among villagers in Attapeu province, Lao PDR. PLoS Negl Trop Dis. 2017 11(12): e0006148.

|  |  |
|--|--|
|  | <p>れている。これまでのところクロロキンやアルテミシニン併用療法が有効であり、薬剤耐性は報告されていない。しかしながら、サルマラリア原虫は他のヒトのマラリア原虫と比べ赤血球での増殖速度が早く（24時間で1サイクル）、迅速診断テストで三日熱マラリアと診断されても、油断せず適切な抗マラリア薬による治療を実施する必要があることが、本プロジェクトの研究結果から明らかとなった。</p>   |
| <p>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。</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 活動 2-1 で示したとおり、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<sup>14</sup>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。</li> <li>• また、プロジェクトは大メコン圏における G6PD 欠損症に関するレビュー論文<sup>15</sup>を 2017 年に国際誌で発表した。このレビュー論文では、同地域で過去にどのような G6PD 欠損症による症状が報告されたかを調査し、取りまとめた。その結果として、プリマキン内服による溶血性貧血だけでなく、ソラマメを摂取することによる溶血性貧血、チフスによる感染、新生児黄疸症、あるいはサラセミアにも影響を及ぼすことが報告されており、G6PD 欠損症の検査は三日熱マラリアの薬物治療以外にも、さまざまな要因に対して重要な検査であることが明らかとなった。</li> <li>• 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 <i>Viangchan</i> 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。</li> <li>• 2016 年 11 月と 2017 年 10 月にサバナケット県（n=927）、2017 年 2 月に北部のポンサリー県（n=426）で同様の G6PD 調査を実施した。これらの調査結果をまとめると、以下のとおりである。<br/>2,043 名の住民の血液検体を同仁科学研究所の検査キットを用いて検査し、そのうち 136 名の G6PD 酵素活性が 60%未満であった（G6PD 欠損症）。これら 136 検体の G6PD 遺伝子解析を実施した結果、90 検体に <i>Viangchan</i> 型変異が、3 検体に <i>Canton</i> 型変異が、2 検体に <i>Mahidol</i> 型変異が観察された。G6PD 遺伝子に変異が観察された割合を県別にみると、チャンパサック県が 6.1%、サバナケット県が 5.5%、ポンサリー県が 0.5%であった。このように地域によって G6PD 欠損症の頻度が異なるのは、その地域に住む民族の違いによるところが大きいことが明らかとなった。例えば <i>Viangchan</i> 型変異はすべてサバナケット県とチャンパサック県から確認され、その 44%は Lao 族であった。一方、<i>Canton</i> 型変異は、サバナケット県の Lao Katang 族と Mangkong 族からのみ観察され、<i>Mahidol</i> 型変異はポンサリー県の Akha 族からのみ観察された。<i>Viangchan</i> 型変異はその名のとおり、ピエンチャンから初めて報告された G6PD 遺伝子変異であり、ラオスの多数派民族である Lao 族に多い変異だと思われる。一方、北部のポンサリー県には Lao 族は少なく、G6PD 遺伝子変異の頻度と傾向が、Lao 族が多い地域と異なることが明らかとなった。これらの知見についてプロジェクトは終了時評価時点で学術論文の原稿を作成中であり、2018 年中に投稿できる見込みである。現在、三日熱マラリアの根治療法としてプリマキンの内服が、ラオスのマラリア</li> </ul> |

14 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。

15 Ken et al., *Systematic review of the clinical manifestations of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the Greater Mekong Subregion: implications for malaria elimination and beyond*. BMJ Global Health 2017.

|  |   |
|--|---|
|  | <p>治療ガイドラインに記載されている。またプリマキン処方の前に G6PD の迅速診断テストキットを用いて G6PD 酵素活性を調査する必要があることが明記されている。しかしながら、G6PD の迅速診断テストキットの結果判定が明瞭ではない場合があること (G6PD の迅速診断テストキットの問題)、保健センターレベルでは G6PD 検査とプリマキン処方ができないことなど、運用面での改善が必要である。マラリア患者の多くは最寄りの保健センターを受診し、遠方の郡病院、県病院までは行かない場合が多いので、三日熱マラリアの根治療法を受けないで再発を繰り返す患者がいる。再発の症例数はシステム上カウントされていないので、実態は不明である。</p> |
|--|---|

| 【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  |
| <p>3-1. クロロキン耐性責任遺伝子 <i>pfert</i> 及びアルテミシニン耐性責任遺伝子 <i>K13</i> 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。</p> | <p>&lt;クロロキン耐性マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• NCGM においてクロロキン耐性責任遺伝子 <i>pfert</i> 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<sup>16</sup>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 <i>wild type</i>) 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。検体数と調査地域を広げて解析を進める予定であったが、中間レビュー以降はアルテミシニン耐性の研究を中心に実施していたため、検体を増やしたクロロキン感受性にかかわる解析は終了時評価時点では進捗していない。</li> <li>• NCGM で、クロロキン耐性責任遺伝子 <i>pfert</i> 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を引き替えに、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。プロジェクトはこれらの研究成果の一部を 2018 年に国際誌に発表した<sup>17</sup>。</li> </ul> <p>&lt;アルテミシニン耐性マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• NCGM で、アルテミシニン耐性責任遺伝子 <i>K13</i> 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<sup>18</sup>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 <i>New England Journal of Medicine</i><sup>19</sup> に発表された。</li> </ul> |

16 クロロキン耐性のキーとなる変異は *pfert* 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。

17 Iwagami et. al., *Pfprt* genotypes and related microsatellite DNA polymorphisms on *Plasmodium falciparum* differed among populations in the Greater Mekong Subregion. *Parasitol Int.* 2018 Dec;67(6):816-823.

18 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。

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

|  |  |
|--|--|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>・2015年10月から2016年4月にかけて南部5県の医療施設で採取されたマラリア患者血液検体2,409検体のDNA解析をNCGMで実施した結果、熱帯熱マラリア原虫が1,151検体で観察された。これらのアルテミシニン耐性責任遺伝子(K13)の変異の有無を調べた結果、56%に耐性型変異が観察された。また、K13の耐性型変異の割合を地域別に解析したところ、最南部で最も変異の頻度が高く、北上するにしたがって低下することが初めて明らかとなった。変異の頻度を県別にみると、チャンバサック県73%、アッタプー県69%、サラワン県58%、セコン県39%、サバナケット県28%であった。次に郡別にみると、サバナケット県タバントン郡が97%と最も高く、次にサラワン県ヴァピー郡が91%で2番目に高かった。これら2つの郡は接しており、調査時期に木材の伐採が盛んであった地域であった。本プロジェクトの研究結果や、これまでに実施されたフィールド調査の報告を検証すると、メコン地域では木材の伐採など森林での活動がマラリア感染の危険因子であることが明らかとなった。この原因として、マラリア流行地域の村には世界エイズ・結核・マラリア対策基金からの援助により薬剤浸潤蚊帳が無償で配布されていることから村の中でのマラリア感染のリスクは減少傾向にあるのに対し、森林での作業(宿泊を伴う)では、蚊帳などの防蚊対策なしに一定期間滞在するケースが多く、マラリア媒介蚊との接触頻度が高いことが示唆されている。木材の伐採が盛んな地域であることと薬剤耐性マラリアの頻度が高いこととの相関は、マラリア感染率の高さや不適切な薬剤の使用が影響していると推察される。不適切な薬剤の使用としては、アルテミシニン単剤、または偽薬を使用している(いた)可能性が推察される。</li> <li>・また、上記の調査においてK13遺伝子の変異は4種類(C580Y、P574L、R539T、Y493H)が観察され、最も頻度が高いのはC580Yであった。これは世界で初めてアルテミシニン耐性が報告されたカンボジア西部の熱帯熱マラリア原虫から確認された変異と同じである。</li> <li>・さらに、2017年11月から、ラオス最北部ポンサリー県の医療施設でもマラリア患者疑い血液検体の採取を開始した。2017年11月と12月に採取された98検体のDNA解析を実施した結果、熱帯熱マラリア原虫が3検体、四日熱マラリア原虫が3検体、三日熱マラリア原虫が2検体観察され、残り90検体はマラリア陰性であった。熱帯熱マラリア原虫のK13遺伝子解析を実施した結果、3検体すべてC580Yであった。</li> </ul> |
| <p>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。</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・活動3-1の結果を踏まえ、プロジェクトはカンボジア由来のK13遺伝子変異C580Yがラオスに拡散しているとの仮説を立て、この遺伝子変異の地理的起源を解明するために、K13遺伝子近傍の遺伝子領域2カ所(Pf K13_151とPf K13_159)の解析を実施した。この解析から、カンボジア由来のアルテミシニン耐性原虫は人の移動に伴いラオス南部から徐々に北部へと拡散し、2017年末には最北のポンサリー県にまで到達したと推察された。</li> <li>・以上の結果から、アルテミシニン耐性マラリアはラオスのポンサリー県から中国雲南省へ拡散する危険性が示唆された。現在、中国雲南省の昆明からビエンチャンを結ぶ鉄道建設が始まっており、ラオス北部では中国人労働者が多くこの建設に従事している。中国人労働者を介してラオス北部に広がりつつあるアルテミシニン耐性マラリアが雲南省へ拡散することを防ぐために、IPLは2018年3月に、雲南省プーアル市にある雲南寄生虫病研究所を訪問し、初の対策会議を実施した。この会議は上海パスツール研究所と中国科学アカデミーの主催で実施された。</li> <li>・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。プロジェクト終了後も引き続きNCGMがIPLの寄生虫学ラボをサポートする計画である。薬剤耐性遺伝子変異の能動的サーベイランスの規模は確保できる予算により検討が必要であるが、今後はより患者報告数が多い医療施設に絞って実施する予定である。さらに遺伝子変異の調査だけでなく、治療後のフォローアップによる治療効果の評価も視野に入れている。</li> </ul>   |
| <p>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。</p>       | <ul style="list-style-type: none"> <li>・本プロジェクトではアルテミシニン耐性のメカニズム解明のための新規マーカー遺伝子を探索は実施せず、K13遺伝子近傍の遺伝子多型を分子マーカーとして用い、ラオス国内での拡散様式の解析を実施した。</li> <li>・新規のマーカー遺伝子の探索を実施していない理由として、K13遺伝子がアルテ</li> </ul>   |

|  |  |
|--|--|
|  | <p>ミシニン耐性遺伝子マーカーとして世界的に認識され広く用いられており、他の新たな遺伝子マーカーを探索するよりも <i>K13</i> 遺伝子とその近傍遺伝子を詳細に調べたほうが、アルテミシニン耐性の流行拡散状況を推定するのに効果的だと考えられたことが挙げられる。また新規薬剤耐性遺伝子の探索を実施するためには、フィールド検体の全ゲノム解析や熱帯熱マラリア原虫の培養系を用いた薬剤感受性試験などの大掛かりで長期的な基礎研究が必要となるため、本プロジェクトで実施するのは適切ではないと考えた。</p> |
|--|--|

【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  |
|--|---|
| <p>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。</p> | <p>&lt;マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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㈱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。</li> <li>2016 年 8 月に、IPL に駐在する JICA 長期専門家 (NCGM 研究者) が IPL 寄生虫学研究室スタッフ 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、ラオス保健省 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。</li> <li>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、ルアンプラバン県、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、ルアンプラバン県では 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。ルアンプラバ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迅速診断テスト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のみが陽性となった。LAMP 法に基づくマラリア遺伝子検出法導入の目的は、ラオスのマラリア対策をサポートすること、及び WHO の事前承認を取得するためのデータを蓄積すること、である。本プロジェクトは LAMP 法によるマラリア遺伝子検出法のラオスへの正式導入をめざしているが、保健省は WHO の事前承認が得られていないマラリア診断法を導入することは不可能であるとの見解を示している。プロジェクトは栄研化学㈱の協力を得て、プロジェクト終了までに更に 5 台の LAMP 診断機器をラオスの流行地域の医療施設へ導入し、プロジェクト終了後も NCGM 並びに IPL が主導的に、LAMP 法によるマラリア診断の臨床症例数を蓄積していく予定である。</li> <li>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プラバン県保健局 SMPE で運用状況の確認とフォローアップ研修を行った。</li> </ul> <p>2017 年 1 月、栄研化学㈱の職員、本プロジェクトのチーフ・アドバイザー (JICA 専門家)、JICA 長期専門家、本プロジェクトのプロジェクト・マネージャーである IPL 所長、IPL 寄生虫学研究室スタッフとともに、ルアンプラバン県保健局 SMPE を訪問し、運用状況の確認とトラブルシューティングを実施した。これまでに経験した主なトラブルと対応状況は、活動 1-4 に記載のとおりである。その他の課題として、現地スタッフが 9 ページのラオス語で書かれた SOP が長すぎて読むのが困難であるという意見が聞かれた。現地スタッフはポイントだけを 1 ページにまとめてほしいとプロジェクトへリクエストしたが、LAMP 法によるマラリア遺伝子検出を適切に実施するためには、SOP を省略することは不可能である。これはラオス語そのものが、読み書きが難しい言語であるためでもあるものの、すべての活動に通じることであるが、SMPE など地方部の保健人材はラオス語読解の訓練が必要だと考えられた。</p> <p>2017 年 3 月、栄研化学㈱の職員と IPL 寄生虫学研究室スタッフとともに、サバナケット県、並びにチャンパサック県保健局 SMPE を訪問し、運用状況の確認</p> |

|   |  |
|---|--|
|   | <p>とトラブルシューティングを実施した。ルアンプラバン県保健局と同様なトラブルシューティングを実施した。</p> <p>2018年2月、JICA長期専門家はLao TPHI職員とともにサバナケット県保健局SMPEを訪問し、運用状況の確認とトラブルシューティングを実施した。しかしながら、サバナケット県保健局SMPEでは上述したようなLAMP試薬の湿気による劣化が生じ、陰性コントロールを含むすべての結果が陽性となるトラブルが再発し、2018年1月からLAMP法に基づくマラリア遺伝子検出を実施していない。プロジェクトは適宜電話で使用状況の確認を実施しており、この問題を把握はしていたものの、LAMP試薬の供給が期限切れ等の理由により一時停滞していたこともあり、終了時評価時点で解決できていない。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•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。</li> </ul> <p>&lt;メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症について&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•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症のためのLAMP法によるDNA検出法を開発し、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、メコン住血吸虫症のためのLAMP法による遺伝子検出法の導入も技術的には可能であるが、プロジェクトはチャンパサック県保健局、並びにコーン郡保健局の現状をかんがみ、最終的には現時点での導入は適切でない判断した。具体的には、マラリア診断のためのLAMP法による遺伝子診断法は試薬が凍結乾燥されており、常温保存が可能である。しかしながら、メコン住血吸虫症診断のためのLAMP試薬は冷凍保存が必要であり、さらにラボスタッフが繊細なピペット操作が必要となる試薬調製を行う必要がある。現在のチャンパサック県保健局SMPE並びにコーン郡保健局ではコールド・チェーンや冷凍庫（無停電装置含む）などの施設設備やスタッフの技術力を勘案すると、これらの施設にメコン住血吸虫症診断のためのLAMP法による遺伝子検出法の導入は現実的ではないとプロジェクトは結論づけた。</li> <li>•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った。糞便検体からのDNA抽出方法の検討、並びにLAMP反応条件検討も含めて中間レビュー以降も改良を実施した。さらに、魚の筋肉から採取したメタセルカリアについてLAMP法による遺伝子検出を実施した結果、タイ肝吸虫よりも、<i>H. taichui</i>に多く感染していることが明らかとなった。<i>H. taichui</i>の虫卵とタイ肝吸虫の虫卵は、顕微鏡検査では判別が困難である。したがって、本プロジェクトが開発したタイ肝吸虫LAMP法は、Kato-Katz法による顕微鏡検査よりも正確な結果を示していると考えられる。</li> <li>•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。</li> </ul> |
| <p>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。</p> | <p>&lt;マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•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、または迅速診断テスト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ラオス保健省、WHOラオス事務所と協議のうえ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。</li> </ul> <p>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</p>  |



め、LAMP法に基づくマラリアDNA検出法のWHO事前承認取得をめざしている。導入した県保健局SMPEにおいて臨床検体検査のデータを蓄積しているが、当初、想定した検査症例数に到達していない〔2018年9月現在、ルアンプラバン県で24検査（すべて陰性）、サバナケット県で88検査（2三日熱マラリア陽性、86陰性）、チャンパサック県で2検査（すべて陰性）〕。県保健局SMPEでは県病院、郡病院、または保健センターでLAMP法によるマラリア遺伝子診断が必要（顕微鏡診断陰性、迅速診断テスト陰性のマラリア疑い患者）と判断されれば、血液検体が県保健局SMPEに送付されることになっているが、実際にはどの程度、検体がSMPEに送付されているかは不明である。また、これらのSMPEはマラリア発生件数の多い村から離れた場所にあるため、SMPEが所在する県の中心地まで検体が持ち込まれるケースが少ないことも、期待した程度でLAMP法による遺伝子検査が実施されなかった大きな要因であると考えられた。今後は、栄研化学㈱の協力のもと、より患者が多い郡病院を選定してLAMP法検出器が更に5台導入される計画となっており、プロジェクト期間終了後もNCGM、IPLが協力して臨床検査症例の蓄積に向けた努力を継続することになっている。

・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。これ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無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。

2017年11月に保健省DCDCのCMPEが発行した「マラリア排除サーベイランスガイドライン」には、マラリア患者数が少なくマラリア・コントロールから排除（elimination）のフェーズに移行した県でのサーベイランスは、通常のマラリア患者情報の収集ではなく、「信頼性のある顕微鏡検査、迅速診断テスト、または分子診断技術を用いてマラリア原虫の感染を検出する」と記載された。すなわち、本プロジェクトがIPLで信頼性のあるマラリアの分子診断法を確立するとともに、それらの方法を用いて保健省やWHOの活動への検査協力や情報共有、技術的アドバイスなどを継続したことにより、それらの必要性を関係機関が理解したことで、プロジェクトによる技術協力の成果がラオスの国として実施するマラリア対策に反映されたと読み換えることができる。

<メコン住血吸虫症について>

- ・メコン住血吸虫症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。
- ・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0.26%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「ラオス国家保健研究フォーラム」で報告されている。また2017年4月の調査で採取した5,500匹の貝のメコン住血吸虫感染率は少なくとも0.08%、2018年4月の調査で採取した5,000匹の貝のメコン住血吸虫感染率は0.03%以下であることが推定された。この結果は2016年4月の結果（0.26%）から大きく減少しているが、その原因として流行地域に生息する中間宿主貝の感染率が、保健省が実施している人を対象とした対策によって減少していることや、その他の要因によって減少している可能性が推察された。本プロジェクトが国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構（Japan Aerospace Exploration Agency：JAXA）と実施している人工衛星からの地理データを活用した解析によると、2016年は乾期のメコン川の水位が高く、貝の感染率も水位と相関して高くなっている可能性が示唆された。現在、プロジェクトはJAXAと協力して詳細な統計解析を実施中であり、本プロジェクト終了までにこれらの解析結果を学術論文として報告する予定である。また、これらの研究成果の一部は、2018年10月に開催される「ラオス国家保健研究フォーラム」で報告した。

<タイ肝吸虫症について>

- ・タイ肝吸虫症は魚の生食を行う文化的な背景もあり、カムアン県ニョンマラート郡でのKato-Katz法に顕微鏡検査による感染率は88%と報告されている。チャン

|   |   |
|---|---|
|   | <p>パサック県ムラパモック郡で実施した調査では、Kato-Katz 法による感染率は 77%で、LAMP 法による感染率は 47%であった。カムアン県とチャンパサック県とでは調査対象者が異なるので直接的に結果を比較することは困難であるが、カムアン県の真のタイ肝吸虫感染率は少なくとも 88%よりも低いと推察される。本プロジェクトが開発した LAMP 法によるタイ肝吸虫遺伝子検査法はタイ肝吸虫 DNA 検出に一定の感度と特異度が確保できていると推察できるが、ほかに正確な結果を提示できる比較対象がないために、LAMP 法による遺伝子検査法による調査結果が真の感染率であると断定することはできない。ただし、少なくともタイ肝吸虫症の有病率は従来の顕微鏡検査による結果よりは少ないことが推定されるものの、依然として高い感染率であることはかわらない。したがって、ブラジカンテルによる集団駆虫だけでなく、長期的な視点で生魚を食べる食文化や生活習慣に対する社会科学的アプローチ（ポジション・デビエンスなど）も、科学的な検証を行う研究の実施が望まれる。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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を行い、プロジェクトで開発した検査法を用いた科学研究アプローチが補強するかたちとなると考えられる。</li> </ul>  |
| <p>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。</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>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。</li> </ul> <p>&lt;マラリアについて&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>マラリアの予防に関しては、既に世界エイズ・結核・マラリア対策基金（Global Fund for 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 を配布されている。しかしながら、コミュニティにおける実際の蚊帳の使用状況を観察すると、適切に使用されていない場合も認められる（蚊帳に穴が空いている、家族の中に使っていない者がいる）。したがって、蚊帳の配布率だけでマラリア対策を評価するのは危険である。</li> </ul> <p>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（<math>p&lt;0.05</math>）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（<math>p&lt;0.05</math>）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。さらに、南部 5 県のデータを用いて多変量解析を実施した結果、マラリア感染の危険因子は成人男性であることのほかに、過去にマラリアに 3 回以上罹患経験があるもの、農業従事者、並びに軍関係者であること、などが特定された。ラオス政府は 2030 年までにマラリアを排除（elimination）することを目指しているが、この目標を達成するためには、感染リスクが高い集団を対象を絞った対策を実施することも効果的であると考えられる。</p> <p>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。</p> <p>森林労働者に対する感染予防に関するアプローチとして、ラオス保健省、並びに WHO 等の関係機関が協力して「マラリアポスト」と呼ばれる検査施設を森林地帯に設置し始めた。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した。その結果、マラリア患者の家族、並びにその友人がマラリアに感染している確率が高いことが明らかとなった。これは、同じ環境にいるもの同士が、そうでない者同士よりもマラリアに感染するリスクが高いことを示している。この成果に基づき、マラリア患者を 1 人発見したら、その患者の家族、並びに友人等に対して能動的に検査を実施することで、より効果的にマラリア患者（または無症候性キャリア）を発見し、治療することが可能となる。プロジェクトはこの成果を 2017 年のラオス国家保健研究フォーラムで発</p> |

表した。

<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員を採取した地点と、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に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。

中間レビュー以降、プロジェクトは 2017 年及び 2018 年にメコン住血吸虫感染員の分布状況調査を実施した。これらの調査結果を JAXA の保有する衛星データや無償で入手可能な衛星データと組み合わせて解析し、より精度の高いリスクマップを作成した。今後はそのデータをチャンパサック県保健局及びコーン郡保健局と共有し、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、Kato-Katz 法による顕微鏡検査で調査対象 687 名中 605 名 (88%) が陽性であった。本プロジェクトが開発した LAMP 法に基づくタイ肝吸虫 DNA 検出法を用いたチャンパサック県での調査結果により、実際はタイ肝吸虫に形態が類似する *H. taichui* などの他の吸虫類の感染がタイ肝吸虫感染と誤って診断されている場合が一定程度の割合で発生していることが明らかになった。とはいえ、同地区でも毎年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魚由来の寄生虫に再感染していることが明らかとなった。

- ・他方、2015 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あと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た。

しかしながら、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<sup>20</sup>から採取したタイ肝吸虫様のメタセルカリア (被囊幼虫) 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。

中間レビュー後は、タイ、ラオス及び日本の専門家からのアドバイスに基づき、本プロジェクトはタイ肝吸虫と類似した寄生虫 (吸虫類) の中で最もよく観察される *H. taichui* の LAMP 法による遺伝子検出方法も開発した。その後、媒介淡水魚の他の部位 (特に、筋肉) からのメタセルカリアを採取し、タイ肝吸虫、並びに *H. taichui* の LAMP 法による種同定を実施した。その結果、タイ肝吸虫だけでなく *H. taichui* のメタセルカリアも淡水魚の筋肉中から検出された。もしタイ肝吸虫メタセルカリアがウロコのみ感染していたら、調理方法やまな板の衛生向上により感染リスクを下げる可能性もあると考えられるが、タイ肝吸虫や他の吸虫は主に筋肉に感染していることが明らかとなった。

中間レビュー時点では、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たが、まな板を洗わないことが本当にタイ肝吸虫の感染源となるのか明らかにできなかった。介入試験は実施しなかった。とはいえ、まな板からタイ肝吸虫 DNA 検出法が検出されなかったことが、まな板の状態に代表される家庭の衛生状況が非感染状態維持のポジティブ・デビエンスとなることを完全に否定しているわけではないため、本研究を担当した東京大学の研究グループは、対象を流行地域の個々の家庭から村単位に対象を拡大し、プロジェクト期間終了後も研究を継続する意向を示している。

20 なお、タイマヒドン大学研究者からの情報では、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。

| 【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。                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>共同研究計画に沿って、JICA 長期専門家、JICA 短期専門家が IPL 寄生虫学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 3 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。中間レビュー時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 専門家の指導のもとで全国保健研究フォーラムで研究成果の発表を行った。また 2017 年には、IPL スタッフ 2 名、琉球大学大学院生に留学しているラオス人大学院生 2 名が、日本人研究者の指導のもとで「全国保健研究フォーラム」で研究成果の発表を行った。さらに、琉球大学大学院修士課程に留学していたラオス人研究者（Lao TPHI 職員）が、ラオスで実施したマラリア研究の成果を学術論文として取りまとめ、Tropical Medicine and Health に発表した。その他、IPL スタッフがメコン住血吸虫症の研究成果に関する学術論文を執筆中であり、プロジェクト期間終了までに国際誌に投稿予定である。中間レビュー以降は研究結果の解釈や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、JICA 専門家の指導のもと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っている。</li> <li>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<sup>21</sup>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、共にフィールド調査や IPL での共同研究を行っている。</li> </ul>    |
| 5-2. ラオス人研究員を NCGM に招へいし、共同研究を行う。                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>これまでにラオス人研究者 5 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、2015 年 2 月に IPL ラオス人技術補助員 1 名、2016 年 2 月に IPL ラオス人ジュニア研究員 1 名、2017 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。</li> <li>2015 年 10 月からラオス保健省 NIOPH（現、Lao TPHI）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 月に修士号取得した。</li> <li>また、2016 年 4 月からラオス保健省 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めざしている。</li> </ul>  |
| 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。 | <ul style="list-style-type: none"> <li>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。さらに 2017 年 2 月に、NCGM で 1 カ月間の分子寄生虫学に関する研修を受けた。</li> <li>2015 年にプロジェクトはラオス南部 5 県（サバナケット、サラワン、チャンパサック、セコン、アタプー）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。</li> <li>また、活動 3-1 に示したとおり、2017 年 11 月からプロジェクトは中国の雲南省に接するラオス最北のポンサリー県の医療施設（県病院、郡病院、保健センター）にてマラリア疑い患者検体の採取を開始し、アルテミシニン耐性責任遺伝子（K13）の解析を実施した。この活動に伴い、特に熱帯熱マラリア報告数が高い 8 つの医療施設からスタッフ 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。</li> <li>2016 年 5 月、JICA 長期専門家を中心となり、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</li> </ul> |

21 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づけられないが、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。

|   |  |
|---|--|
|   | <p>カ月間提供した。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2016年と2017年、プロジェクトは前年度の研修に参加した156名を対象としたリフレッシュ研修を行った。</li> </ul>  |
| <p>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。</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>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。<br/>マラリア対策、並びにメコン住血吸虫症対策に関しては、ラオス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。<br/>特にマラリア診断に関しては、顕微鏡検査と迅速診断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。<br/>また、2016 年 1 月に保健省 DCDC と CMPE によって発表された「マラリアおよび排除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。</li> <li>他方、チャンバ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。<br/>さらに 2016 年からは WHO 西太平洋事務局 (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 寄生虫学研究室スタッフに ELISA 法の技術移転を行った。</li> <li>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かたち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。</li> <li>その他、JICA 長期専門家 (NCGM 研究者) は WHO 主催のリージョナル会議にテンポラリーアドバイザーとして参加し、大メコン圏のマラリア対策、並びにメコン住血吸虫症対策に助言を行っている。参加した会議の詳細は以下のとおりである。2017 年 5 月メコン住血吸虫症対策会議 (上海)、2017 年 9 月薬剤耐性マラリア対策会議 (ホーチミン)、2018 年 3 月薬剤耐性マラリア対策会議 (バンコク)、2018 年 9 月薬剤耐性マラリア対策会議 (ルアンプラバン)。</li> </ul> |
| <p>5-5. ラオス全国保健研究フォーラムで、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。</p>        | <ul style="list-style-type: none"> <li>2014 年、2015 年、2016 年、2017 年、2018 年と毎年、ラオス全国保健研究フォーラムで、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) や JICA 長期専門家 (NCGM 研究者) 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。</li> <li>2016 年は、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。</li> <li>2017 年に開催されたフォーラムには、IPL の若手ラオス人研究者 2 名、琉球大学に留学中のラオス人研究者 2 名、日本人大学院生 1 名を含む合計 7 名のプロジェクトメンバー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。</li> <li>2018 年のフォーラムには、IPL の若手ラオス人研究者 3 名、琉球大学に留学中のラオス人研究者 1 名、日本の大学院生 3 名を含む合計 9 名のプロジェクトメンバーが本プロジェクトの成果を発表した。<br/>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。</li> </ul>   |

(2) 成果の達成

1) 成果 1

成果 1 の達成度を以下に示す。

| 【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. 開発したマラリアの診断法の感受性、特異性が共に 90%以上である。                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>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、共に従来の診断法（顕微鏡検査、迅速診断検査）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%、迅速診断テストの感受性は 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%、迅速診断テストの感受性は 8%であり、特異度は同じ 100%であった。</li> <li>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㈱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。</li> </ul>  |
| 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。    | <ul style="list-style-type: none"> <li>ラオス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。また、ラオスの医療施設では、メコン住血吸虫症の診断を行うことはほとんどない。したがって、指標で規定されたようなかたちでは患者糞便を用いたメコン住血吸虫症の遺伝子診断を実施しなかったが、プロジェクトはメコン住血吸虫症のリスクマップ作成を目的に、チャンパサック県コーン郡コーン島で LAMP 法を活用した中間宿主貝の感染率調査を実施した。他方、2016 年からは、保健省が主体となって、流行地域（チャンパサック県コーン郡及び Mounlapamok 郡の一部）の中の特定の村の住民を毎年ランダムに選定して有病率調査を実施している。本プロジェクトはこの調査に協力し、Kato-Katz 法による顕微鏡検査と ELISA 法による検査を実施している。したがって、PCR 法や LAMP 法のような高い感度、特異度を有する遺伝子診断の臨床診断はラオスのニーズになく、プロジェクトとしては実施しなかった。つまり、メコン住血吸虫症については、疾患の特性やラオスのニーズを考慮すると、成果 1 に示されるような PCR 法や LAMP 法などの遺伝子検査法の普及は現時点では必要がない。</li> <li>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、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。つまり、プロジェクトで開発した LAMP 法によるメコン住血吸虫症診断のための DNA 検出法は技術的に完成したといえる。上記のとおり、メコン住血吸虫症は通常は医療施設で検査診断する必要はなく、行政機関による有病率調査や研究などに活用されることが求められており、ラオス保健省は IPL がメコン住血吸虫症検査のリファラル・ラボラトリーとして、精度が高い診断を実施することを求めている。</li> <li>なお、WHO の協力のもとで保健省が実施しているメコン住血吸虫症の流行状況調査は、従来法である顕微鏡診断に加え本プロジェクトが開発した血清診断（ELISA 法）を併用して実施されている。IPL はラオスにおいてメコン住血吸虫症の血清診断が実施できる唯一の機関であり、本プロジェクトが開発した技術が国家の実施する調査に対して直接的に貢献しているといえる。</li> <li>さらに、住血吸虫症は人獣共通感染症であるため、住血吸虫症のある国や地域から排除するためには、人だけでなく感染し得る動物も検査・治療の対象とする必要がある。2017 年には WHO 西大平洋事務局からの要請により保健省は農業森林省と合同でメコン川の水と接触する可能性がある動物（水牛、ウシ、イヌ、ブタ、ヤギ）有病率調査を実施した。動物の糞便検体の遺伝子検査は IPL においてプロジェクトで開発した LAMP 法を用いた方法で実施中であり、現在 5 村の検査が終了した段階である。現時点での結果は、犬の糞便 1 検体で陽性が確認された。この結果から、イヌもメコン住血吸虫症対策の対象として考慮する必要があることが示唆された。本プロジェクトが開発したメコン住血吸虫 LAMP 法が、メコン住血吸虫症排除への取り組みに活用されていることから、当初の計画と</li> </ul> |

|   |  |
|---|--|
|   | <p>は異なるかたちでラオスにおけるメコン住血吸虫症診断のための遺伝子検査法開発のニーズを満たしているといえる。</p>   |
| <p>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 ですべての診断に適用される。</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・プロジェクトはタイ肝吸虫症診断のための LAMP 法による DNA 検出法を確立した。その結果、タイ肝吸虫の虫卵と類似した虫卵を排出する寄生虫（例えば、<i>Haplorchis taichui</i>）が流行地域に共存していることが明らかとなり、顕微鏡検査はタイ肝吸虫の有病率を過大評価している可能性が強く示唆された。</li> <li>・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時には解釈された。メコン住血吸虫症と同様に、食文化に起因する高い感染率を背景にタイ肝吸虫症も一般には医療施設での検査診断を行う必要性が乏しく、中間レビュー以降も医療施設等からタイ肝吸虫症疑い症例の検査依頼はきていない。一方、サバナケット県チャンボン郡でラオス保健省が実施した食品により媒介される吸虫症のパイロットスタディには IPL もメンバーとして参加し、ヒト及び中間宿主生物のタイ肝吸虫感染率を LAMP 法による DNA 検出法を用いて調査する予定である。以上のことから、成果 1 で期待されていたような一般の医療施設等での臨床検査サービスとしてタイ肝吸虫症診断のための LAMP 法による遺伝子診断法の普及のニーズはなく、IPL がリファラル・ラボラトリーとして保健省による有病率調査や研究のために検査機能を備えておくことが求められている。したがって、タイ肝吸虫症についても、当初の計画とは異なるかたちでラオスにおけるタイ肝吸虫症診断のための遺伝子検査法開発のニーズを満たしているといえる。</li> </ul> |
| <p>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。</p>                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>・プロジェクトはこれまでに PCR 法などの遺伝子診断技術を用いて実施された研究結果を取りまとめた学術論文 6 報を国際誌に発表した。</li> <li>・終了時評価の時点で、メコン住血吸虫症の遺伝子診断（LAMP 法）と人工衛星からの地理データを活用したリスクマップに関する論文を作成中である。</li> <li>・プロジェクト期間中に収集した検体やデータ等を活用し、終了時評価以降、更にはプロジェクト期間終了後多くの論文が作成される見込みである。</li> </ul>  |

上記の指標の達成状況に示したとおり、マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症に対して、感度、特異度の高い遺伝子診断法（PCR 法及び LAMP 法）が開発され、プロジェクトによる研究や保健省や WHO が実施するヒトや動物などの有病率調査に活用されている。また、これらの遺伝子検出法を用いて実施された研究を通して得られた知見や研究成果は学術論文として取りまとめられ、国際誌に投稿、発表されている。

なお、マラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法については、2016 年にビエンチャンの IPL、保健省 CMPE に加え、ルアンパバン県（北部）、サバナケット県（中部）、チャンパサク県（南部）の SMPE へ栄研化学㈱が開発した迅速診断キットである「Loopamp™」（検出器含む）を導入し、顕微鏡診断及び迅速診断テストでマラリア陰性と診断されたマラリア疑い発熱患者にする補助診断法として運用が開始された。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。しかしながら、LAMP 法によるマラリア診断のための DNA 検出法が導入された 3 県の SMPE はマラリア患者が多く発生する地方部からは遠く離れており、地方部の医療従事者の周知も十分になされていなかったことから、当初想定したような頻度で活用されていない。プロジェクトは今後更に 5 台の LAMP 検出器を栄研化学㈱の協力を得て浸淫地域にある郡の医療施設に導入予定であるが、導入時には関係者へ十分周知する活動を行うとともに、LAMP 法による遺伝子診断を行う対象患者選定のためのアルゴリズム作成や検体移送方法など、実際の運用方法も併せて導入する必要がある。他方、プロジェクトはラオスの一般的な検査室の環境において保存中の試薬が湿気で劣化し、測定結果に影響する（擬陽性）場合があることを確認した。LAMP 法に基づくマラリア DNA 検出法は東南アジア

やアフリカのような高温多湿のマラリア流行地域での使用が想定されることから、栄研化学㈱は WHO への事前承認申請までには試薬を個別包装するなど、製品としての改良が実施されることが望ましい。Loopamp™ の普及には WHO の事前認証を取得し、さらにその結果をもとにラオス保健省が同法を公定法として承認する必要があるため、成果 1 で示されているような Loopamp™ をプロジェクトの枠組みの中で普及することは困難であることが関係者間の共通認識である。このような状況を踏まえ、プロジェクトは上述のとおり、LAMP 法の検出器を浸淫地域の郡の医療機関に 5 台導入し、プロジェクト期間終了後も臨床症例の蓄積を継続する予定である。

一方で、指標の達成状況にも示したとおり、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症ともに、疾患の特性やラオスにおける対策活動などを考慮すると、流行地域の臨床現場で診断サービスを提供する必要性はない。また、保健省の依頼により、特定の地域で実施する有病率調査にプロジェクトは PCR 法や LAMP 法、ELISA 法などによる検査協力を継続しており、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）をめざす意義は小さい。ただし、本プロジェクトが開発した遺伝子検出法は非常に感度、特異度とも高い。保健省は IPL がラオスのメコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症検査のリファレンス・ラボラトリーとして機能することを期待していることから、IPL でこれらの遺伝子診断技術を備えておく必要がある。したがって、当初想定したものは異なるかたちであるが、プロジェクトはラオスでのニーズに即したメコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症の診断法開発・普及を達成したと考えることができる。

以上のことから、プロジェクトは 3 つの対象疾患に対する DNA 検出法を確立し、プロジェクトの研究に使用するとともに、それぞれの疾患で求められる運用に適したかたちでラオスの感染症対策に貢献できていることが確認された。したがって、当初想定されたかたちとは異なる部分はあるものの、成果 1 は終了時評価時点でおおむね達成されているといえる。

## 2) 成果 2

成果 2 の達成度を以下に示す。

| 【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をモニタリングされる。 |  |
|--|--|
| 指標   | 達成度  |
| 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。                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>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、終了時評価における成果 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。</li> </ul>  |
| 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。                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>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 <i>Malaria Journal</i> に発表した<sup>22</sup>。また、2017 年にも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 <i>PLOS Neglected Tropical Diseases</i> に発表した<sup>23</sup>。</li> <li>終了時評価時点では、熱帯熱マラリア原虫のクロロキン耐性遺伝子と近傍マイクロサテライト DNA マーカーを用いた集団遺伝学的手法を用いた解析を実施し、学術論文を 1 報 <i>Parasitology International</i> に発表した<sup>24</sup>。</li> </ul> |

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

23 Iwagami M. et al., The detection of cryptic *Plasmodium* infection among villagers in Attapeu province, Lao PDR. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017 11(12): e0006148.

24 Iwagami M. et al., *Pfcr*t genotypes and related microsatellite DNA polymorphisms on *Plasmodium falciparum* differed among populations in the Greater Mekong Subregion. *Parasitol Int.* 67: 816-823.2018.





ア原虫と比べ赤血球での増殖速度が早く（24時間で1サイクル）、迅速診断テストで三日熱マラリアと診断されても、油断せず適切な抗マラリア薬による治療を実施する必要があることが、本プロジェクトの研究成果から明らかとなった。

このように、マラリアに関しては終了時評価まで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、集団遺伝学的手法等を用いた高度な解析に結果が論文として国際誌等に発表されるとともに、ラオスのマラリア対策を実施するうえで重要なエビデンスを保健省やWHOなどの関係機関に提供した。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集団遺伝学的解析の適用とはならないことが関係者間での共通認識となっているため、総合的に判断すると終了時評価時点での成果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。

| 【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  |
| 1. 2つ以上の薬剤耐性マーカーが解明される。                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>プロジェクトは薬剤耐性発現に寄与する新たなマーカー遺伝子の検索は実施せず、代わりに既知の薬剤耐性マーカーを活用した調査・研究を実施している。これは、既知のマーカーの遺伝子変異を調査することで薬剤耐性マラリアの拡散様式の推定が十分に可能であり、なおかつ他の国や地域のデータとの比較検討が容易に実施できるためである。</li> <li>なお、新たなマーカー遺伝子の検索はサイエンスとして価値のある研究ではあるが、「2つ以上の薬剤耐性マーカーが解明される」ことは、「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こと」の達成度測定の尺度にはならない。</li> </ul>  |
| 2. 薬剤耐性の出現と拡散に関する研究成果が、5年間のうちに1報以上、学術誌に掲載される。 | <ul style="list-style-type: none"> <li>2016年に、パスツール研究所国際ネットワーク共同で、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世界的に権威のある学術誌（New England Journal of Medicine）に発表した<sup>25</sup>。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。なお、2016年の同紙のインパクト・ファクター<sup>26</sup>は72.406であり、サイエンス分野では最高峰の学術誌として認識されている。</li> <li>2018年、クロロキン耐性マラリアの大メコン圏（タイ、カンボジア、ベトナム、ラオス）での拡散に関する学術論文を1報Parasitology Internationalに報告した。</li> <li>2015年から継続的にラオス南部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を収集しており、2017年からはラオス最北の県（ボンサリー県）からも検体収集を開始した。終了時評価時点では、プロジェクトはこれら6県から得られた検体から耐性遺伝子変異の分布状況を解析し、その結果を取りまとめた学術論文を国際誌に投稿中である。</li> </ul> |

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は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が示唆された。

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。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 *pfprt* について解

25 Menard D et al., A Worldwide Map of Plasmodium falciparum K13-Propeller Polymorphisms. New England Journal of Medicine, 374: 2453-2464. 2016.

26 自然科学・社会科学分野の学術雑誌を対象として、その雑誌の影響度、引用された頻度を測る指標。

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。

また、プロジェクトはアルテミシニン耐性に関連する遺伝子 *K13* について大規模な調査、解析を実施したところ、カンボジア由来のアルテミシニン耐性原虫は人の移動に伴いラオス南部から徐々に北部へと拡散し、2017 年末には最北のポンサリー県にまで到達したと推察された。以上の結果から、アルテミシニン耐性マラリアはラオスのポンサリー県から中国雲南省へ拡散する危険性があり、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。

上記したとおり、終了時評価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や研究成果を得ている。その成果は学術論文として国際誌に発表され、そのうちの一つは世界的にも権威のある学術誌である。また、これらの知見や研究成果はラオスのみならず、地域、世界がマラリア対策を行ううえで重要なエビデンスとして関係機関に供給されていることから、終了時評価時点での成果 3 の達成度は非常に高いと考えられる。

#### 4) 成果 4

成果 4 の達成度を以下に示す。

| 【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  |
| 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%以上となる。 | <ul style="list-style-type: none"> <li>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、顕微鏡陽性率は 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、顕微鏡陽性率はわずか 5%（一致率 5%）である。</li> <li>ただし、従来法である顕微鏡法や免疫クロマトグラム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。</li> <li>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。</li> <li>タイ肝吸虫症について、顕微鏡法による診断結果の信頼性に問題がある（過大評価）可能性が高く、顕微鏡陽性率よりも低い値がでる遺伝子検査（LAMP 法）陽性率のほうが正しいと推察された。</li> </ul> |
| 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。  | <ul style="list-style-type: none"> <li>疾患の予防に関する住民教育の IEC 教材作成は作成していない。</li> <li>既に、ラオスではマラリア感染予防に向けて、学校の教科書に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。</li> <li>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。なお、プロジェクトは家庭のまな板の衛生状況が保たれていることが、プラジカンテルによる集団駆虫後のタイ肝吸虫非感染状態維持に対するポジティブ・デビエンスである可能性について検討していた。もし、このポジティブ・デビエンスが証明できれば、教材等の改訂や作成に活用されることが想定されていた。しかしながら、まな板からタイ肝吸虫 DNA が検出されなかったため、ポジティブ・デビエンス証明のための介入試験は実施できなかった。</li> </ul>   |

マラリアに関して、成果 1～3 のもとで流行状況や薬剤耐性の分布、拡散にかかわる調査・分析がプロジェクトの研究として実施された。メコン住血吸虫症についても、プロジェクトは感度、特異度の高い DNA 検出法を IPL で確立し、ヒトだけではなく媒介貝や動物の感染率調査などの研究に適用している。プロジェクトはこれらの感染率の結果と JAXA の協力によって提供された人工衛星からの地理データを複合的に解析してリスクマップを作成するとともに、感染のリスク要因の分析も行った。タイ肝吸虫症についても同様、プロジェクトは感度、特異度の高い DNA 検出法を開発し、プロジェクトの研究に使用した。特に、タイ肝吸虫 DNA 検出法の開発作業を通じて、プロジェクトは顕微鏡検査では実際にはタイ肝吸虫に形態学的に類似する吸虫症がタイ肝吸虫として診断されている割合が一定程度あることを明らかにした。これらの活動を通して得られた知見や研究成果は保健省だけでなく WHO やその他のラオスや地域のマラリア対策にかかわる関係機関にエビデンスとして供給され、政策の立案や流行の監視、対策の実施に直接的、間接的に活用されている。

マラリアに加えメコン住血吸虫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、新たに住民教育のための教材等を作成することには議論の余地がある。なおプロジェクトでは、タイ肝吸虫症に関して非感染者の家庭では感染者が出た家庭に比較して、魚をさばいたあと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 (Positive Deviance) である可能性を示唆する調査結果を得ていた。しかしながら、まな板を洗わないことが本当にタイ肝吸虫の感染源となるのか明らかにできなかったので介入試験は実施しなかった。とはいえ、まな板からタイ肝吸虫 DNA 検出法が検出されなかったことが、まな板の状態にみられる家庭の衛生状況が非感染状態維持のポジティブ・デビエンスとなることを完全に否定しているわけではないため、本研究を担当した東京大学の研究グループは対象を流行地域の個々の家庭から村単位に対象を拡大し、プロジェクト期間終了後も研究を継続する意向を示している。

このように、プロジェクト期間内ではポジション・デビエンスのような科学的根拠に基づいた住民の感染予防に向けた手段を構築できなかったが、プロジェクトは IPL において感度、特異度の高い遺伝子検出法を確立し、ラオスー日本寄生虫学ラボをこれら対象疾患のリファレンス・ラボラトリーとして機能させることに大きく貢献した。また、プロジェクトの研究成果の共有はラオスにおける対象疾患の監視に直接的に貢献しており、プロジェクト期間終了後も同ラボは維持されることが見込まれていることから、終了時評価時点で成果 4 はおおむね達成できていると考えられる。

5) 成果 5

成果 5 の達成度を以下に示す。

| 【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   |
| 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。       | <ul style="list-style-type: none"> <li>マラリアが多いラオス南部 4 県と中部 1 県（サバナケット県）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 年に実施し、2016 年、2017 年にはリフレッシュ研修を実施した。また、2017 年にラオス最北の県ポンサリー県の保健人材 8 名を対象に、マラリア対策に関する基礎研修を実施した。プロジェクト終了後も、現在 NCGM が共同研究を実施している日本の民間企業 2 社から研究費の支援を受けることが決定していることから、引き続き NCGM が IPL との共同研究体制を継続する方向で準備を進めている。したがって、プロジェクト期間終了後も上記 5 県での共同研究は継続されることから、今後も必要な基礎研修やリフレッシュ研修は継続されることが見込まれる。</li> <li>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。</li> <li>2017 年 4 月に、Lao TPHI の職員 1 名に対し IPL で分子寄生虫学に関する実習を実施した。</li> <li>2017 年 5 月及び 2018 年 5 月に、県病院、並びに軍病院の医療従事者 24 名を対象とした 1 週間の研修を IPL が実施した。プロジェクトでは寄生虫病（マラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症、条虫症、肺吸虫症、鉤虫症など）の講義と実習を実施した。</li> <li>2017 年 12 月に、フランス熱帯医学院修士課程の学生 10 名に、IPL で寄生虫病に関する実習を実施した。</li> </ul> |
| 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。 | <ul style="list-style-type: none"> <li>ラオス人研究者によるプロジェクト研究成果の発表は、プロジェクト実施期間中に 54 演題以上ラオス国内外で発表された。</li> <li>2016 年、ラオス人研究者（サバナケット県保健局 SMPE のチーフ）が主となるマラリア研究成果の論文発表（Malaria Journal）を発表した<sup>27</sup>。</li> <li>2017 年、ラオス人研究者（琉球大学大学院修士課程に留学した Lao TPHI の職員）が主となるマラリア研究成果の論文発表を発表した<sup>28</sup>。</li> <li>共著者としてラオス人研究者が入っている論文は上記 2 報のほか 6 報報告された。さらに、2018 年 9 月現在、投稿して査読中の論文が 3 報ある。</li> <li>終了時評価時点、IPL ジュニア研究員が主となるメコン住血吸虫症研究成果の論文を執筆中である。2018 年内には国際専門誌に投稿する見込みである。</li> </ul>   |
| 3. ラオス全国保健研究フォーラムにおいて、関係研究者及び行政官の活動の報告が毎年行われる。      | <ul style="list-style-type: none"> <li>ラオス全国保健研究フォーラムにおいて、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。</li> <li>2018 年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た。</li> </ul>  |

IPL ラオスー日本寄生虫学ラボでは、JICA 専門家（NCGM 研究者）1 名と 2 名のラオス人研究者 2 名の技術補助員がプロジェクトの研究に取り組んでいる。中間レビュー時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、終了時評価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が大きく増やされた。その結果、終了時評価時点で同ラボのラオス人研究者は自分達でフィールド調査を企画し、検体を収集し、高度な研究機器を活用して DNA 解析結果を出すことができるようになった。

27 Pongvongsa T. et al., *Household clustering of asymptomatic malaria infections in Xepon district, Savannakhet province, Lao PDR*. Malaria Journal, 15: 508. 2016.

28 Inthavong N. et al., *Individual and household factors associated with incidences of village malaria in Xepon district, Savannakhet province, Lao PDR*. Tropical Medicine and Health, 45: 36. 2017.

また、JICA 専門家の指導のもと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実施され、ラオス人研究者の何名かは得られた成果を国家保健研究フォーラムで英語で口頭発表した。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、今後も引き続き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基礎研修やリフレッシュ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。プロジェクト期間終了後も、IPL もしくは IPL ラオスー日本寄生虫学ラボが継続して研修の機会を提供することができると見込まれている。

さらに、プロジェクトの長期専門家 (NCGM 研究者) は保健省や WHO 等の主催するさまざまな感染症対策にかかわる会議にアドバイザーとして参加しており、会議上での技術的なアドバイスや研究成果の共有を継続して行った。また、保健省の主催する有病率調査活動などでは実施プロトコルの作成に対して直接的な支援を行っており、ラオスの感染対策にかかわる行政官、研究機関の職員の能力強化にも大きく貢献したと考えられる。

このように、プロジェクトはラオスの感染症対策、研究にかかわる人材に対して、さまざまなかたちで能力強化の機会を提供しており、プロジェクト期間終了後も継続されることが見込まれている。以上のことから、終了時評価時点での成果 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) 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。                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・マラリアのリスクマップは既に NGO の協力のもとラオス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。</li> <li>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員の検出結果 (場所も含む) を保健省 CMPE と共有した。さらに Don Khon 島については、2016 年、2017 年、2018 年と 3 年間、継続して調査を実施した。それらの調査から得られた感染員の検出結果と人工衛星から得られた地理データとを組み合わせ、プロジェクトはメコン住血吸虫症のリスクマップを作成した。</li> <li>しかしながら、感染員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 月に実施されたラオス保健省 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。</li> <li>・また、人工衛星から得られたデータとヒトのメコン住血吸虫感染率を組み合わせ、解析した結果、乾期と雨期で河岸の水位が変化する地域 (比較的水位が浅い地域) では、乾期の水量が多いほどメコン住血吸虫症の感染率が上がる傾向が認められた。一方、乾期と雨期で河岸の水位がほとんど変化しない地域 (比較的水位が深い地域) では、感染リスクが低い傾向が認められた。</li> <li>・タイ肝吸虫症について、流行地域での調査では 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感染リスクがあるといえる。さら</li> </ul> |

|  |   |
|--|---|
|  | <p>に、ラオス保健省の情報に基づく、タイ肝吸虫の流行地域はセコン県を除くボリカムサイ県以南の6県であり、非常に広範囲である。しかも、淡水魚が感染源となるため、非流行地域に在住する者であっても、流行地域で採れた感染魚を食べればタイ肝吸虫に感染する可能性がある。したがって、プロジェクトは、タイ肝吸虫症についてはリスクマップの作成の意義は必ずしも高くないと結論づけた。</p>   |
| <p>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。</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• プロジェクトの研究成果は常に保健省 CMPE と共有されている。また DCDC と IPL は毎年1回、成果報告会が開催されている。</li> <li>• 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。</li> <li>• 特筆すべきこととして、また、2016年1月に保健省 DCDC と CMPE によって発表された「マラリア対策及び排除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。</li> <li>• 本プロジェクトは保健省、並びに WHO と協議を重ね、2016年に栄研化学㈱の協力のもとでマラリア診断のための LAMP 法に基づく DNA 検出方を3つの県保健局 (ルアンプラバン、サバナケット、チャンパサック) に導入した。2016年に発表されたラオス保健省による「国家マラリア対策排除戦略計画 2016～2020」には、「CMPE は技術パートナーと協力して、県レベルの検査室にマラリアの分子診断技術を導入する」と明記されている。また、同戦略計画には、「IPL が薬剤耐性に関する研究計画立案のサポート、およびそれを実施する」と明記されている。さらに、2017年11月にラオス保健省が発行した「マラリア排除サーベイランスガイドライン」の中の「県でのマラリア排除のためのサーベイランスとレスポンス」に、本プロジェクトが主張していた分子診断技術を含めたマラリア感染の検出の必要性が記載された。これらのことから、プロジェクトの活動はラオス政府の政策に直接的な影響を及ぼしているといえる。</li> </ul> |

これまで示してきたとおり、プロジェクトは終了時評価までに特にマラリアに関してラオスにおける流行状況（無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。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。

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完了した。IHR のもと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る。プロジェクトはこれらの寄生虫病に対する感度、特異度の高い DNA 検出法を IPL で確立し、ラオスにおけるリファレンス・ラボラトリーとして機能させることに貢献した。また、これらの方法を用いて実施した研究成果は保健省や WHO など、ラオスの感染症対策に資するエビデンスとして活用されている。

以上のとおり、プロジェクトはラオスの寄生虫病対策に資するさまざまな研究成果を創出した。また、プロジェクトの実施本体である IPL ラオスー日本寄生虫学ラボは既に科学的エビデンスの供給機関として、また、直接的な対策の実施機関としてラオスにおける感染症対策の実施体制に組み込まれており、欠くことのできない存在となっている。したがって、プロジェクト目標の終

了時評価時点での達成状況は非常に良好であるといえる。

### 3-3 実施プロセスの検証

#### (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 Annex7 を参照）<sup>29</sup>。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づけられており、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。さらに、パスツール研究所は組織として地域や全世界のパスツール研究所間の共同研究の推進を奨励しており、2016 年に、パスツール研究所国際ネットワーク共同で、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世界的に権威のある学術誌（New England Journal of Medicine）に発表した。この年の同紙のインパクト・ファクターは実に 72.406 であり、ラオス国内のとどまらない関係機関との協力関係が本プロジェクトの成果の一部が世界的なインパクトにつながられたと考えられる。

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保健省 CMPE や Lao TPHI とは日常的に情報共有を行っている。また、本プロジェクトに参加していた Lao TPHI 所属のラオス人研究者は NCLE の副所長に昇任し、今後、新たな協力関係に発展されることが見込まれている。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、プロジェクト期間を通して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。

このように、プロジェクトは保健省や国内の他の研究機関、WPRO などの国際機関、タイや中国雲南省の研究機関、更にはパスツール研究所の国際的なネットワークのもとで、IPL における共同研究を進めてきた。約 5 年間のプロジェクト活動を通じてこれらの関係機関との協力関係を構築するとともに、研究成果の創出やさまざまな調査活動、会議等の実施を通して、協力関係は更に強固なものとなった。NCGM や東京大学、琉球大学などの日本側研究機関は IPL もしくはラオスでの共同研究活動をプロジェクト期間終了後も継続する予定であり、このような良好なコミュニケーションのもとで、ラオスのみならず世界に対してさまざまな情報発信、科学技術を通じた貢献がプロジェクト期間終了後も継続されることが大いに期待されている。

29 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。



## (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、保健省 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継続している。

他方、これまで示してきたとおり、本プロジェクト（IPL ラオスー日本寄生虫学ラボ）はラオスでのマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症に関する調査研究を実施し、さまざまな知見や研究成果を創出してきた。それらの情報はラオス保健省や WHO 西太平洋事務局が政策や方針、ガイドライン等を作成する際のエビデンスとして直接的に活用されている。また、IPL は保健省が WHO と協力して実施する有病率調査などにおいて精度の高い検査を実施できる唯一の機関として協力している。さらに、国内外の関係機関が参加する対策会議等には IPL に駐在している JICA 長期専門家（NCGM 研究者）がテンポラリー・アドバイザーとしてプロジェクト期間を通して参加している。このように、IPL ラオスー日本寄生虫学ラボはラオスや地域の感染症対策メカニズムに組み込まれている事実を考慮すると、ラオス国として本プロジェクトに対するオーナーシップは非常に高いといえる。

## 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。

#### (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 一貫性

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の保健省や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。このような状況のもとでWHOはラオスを含む拡大メコン圏6カ国<sup>30</sup>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排除をめざす「拡大メコン圏におけるマラリア排除戦略2015～2030」を策定した。ラオス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もとで、2016年1月に「マラリア対策及び排除のための国家戦略2016～2020」を発表した。

このなかで、マラリア排除に向けて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 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。さらに、この戦略計画の中には、保健省CMPEはパートナー機関と協力し、県レベルの検査室に分子診断技術を導入すること、IPLが薬剤耐性に関する研究を計画立案、実施することが明記された。これらのことはプロジェクトがマラリア排除のための無症候性マラリア対策や薬剤耐性研究の重要性を関係機関に示してきた結果であるが、同時に本プロジェクトの妥当性を更に高める結果となった。

また、「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、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。

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研究機能向上や根拠に基づいた感染症対策、ラオスの感染症対策に従事する保健人材の育成を行う本プロジェクトの取り組みとラオスの保健政策並びにニーズとの一貫性は、プロジェクト期間を通して高く維持されている。

#### (2) 日本の援助方針とプロジェクト目標の一貫性

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

30 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。

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靱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月に策定されたわ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<sup>31</sup>の一つに位置づけられている。

また、2015年5月のWHO総会で「薬剤耐性に関する国際行動計画」が採択され、同行動計画が加盟各国に2年以内に自国の行動計画を策定するよう求められたことを受け、わが国でも2016年4月に「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」（2016～2020）を発表した。同アクションプランはWHOのグローバル・アクションプランで示された5つの柱（1：普及啓発・教育、2：動向調査・監視、3：感染予防・管理、4：抗微生物剤適正使用、5：研究開発・創薬）を参考に、国際社会に対して行動することの重要性の認識から「国際協力」を柱の一つに加えた6つの分野で構成されている。「国際協力」分野の目標は「国際的視野で多分野と協働し、薬剤耐性対策を推進する」であり、具体的な取り組みとしてAMEDや国立感染症研究所による協力、JICA技術協力プロジェクトの実施などが明記されている。したがって、ラオスのAMR対策に資する共同研究・技術協力を行う本プロジェクトは、わが国のアクションプランに沿うものであると考えられる。

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めざしている本プロジェクトの目標と、わ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。

### (3) 実施方法の適切性

#### 1) プロジェクトが開発した高い感度、特異度のマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症診断のためのDNA検出法のラオスの感染症対策における位置づけについて

本プロジェクトでは、感度、特異度の高いマラリア、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症診断のためのDNA検出法を開発した。2013年に実施された詳細計画策定調査において実施されたプロジェクト・デザインでは、本プロジェクトは対象3疾患についてLAMP法やPCR法に基づくDNA検出法を開発し、有病率調査や集団遺伝学的解析、薬剤耐性などのプロジェクトの研究に使用されるとともに、「普及」（県レベルの検査室への導入）させることが想定され、PDMで規定された。しかしながら、プロジェクトで開発した新規診断法を地域の検査室に普及させるためには、まずはラオスの保健省によって診断法が公定法として承認される必要がある。しかしながら、ラオスには公定法として承認するための審査メカニズムが存在せず、WHOの事前承認が得られたものに対して臨床検査サービスとしての使用を許可している。本プロジェクトでは栄研化学㈱が開発したLoopamp™を3つの県保健局SMPEに導入したが、公式に承認されている顕微鏡診断やRDTの補助診断法として参考情報を提供するとの位置づけである。Loopamp™についてラオスでの承認を取得するにはWHOの事前承認取得が条件となることから、プロジェクトの枠組みではLoopamp™の国内普及を実現することは不可能であることが関係者間の共通認識となっている。とはいえ、LAMP法やPCR法を用いたDNA検出法は、今後マラリア排除に向けて重要な因子と考えられている顕微鏡診断・RDT診断陰性のマラリア患者や無症候性マラリ

31 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。

ア・キャリアの検出、研究に重要な役割を果たす。本プロジェクトの日本側研究代表機関である NCGM はプロジェクト期間終了後も継続して IPL での共同研究を行い、Loopamp™ の WHO 事前承認取得に向けたデータを蓄積するとともに、顕微鏡診断・RDT 診断陰性のマラリア患者や無症候性マラリア・キャリアや薬剤耐性の研究も継続する予定である。上述のとおり、保健省はマラリア対策政策の中で県レベルの検査室への分子診断技術の導入や薬剤耐性の研究促進を謳っていることから、マラリア DNA 検出法はラオスにおける感染症対策における重要な技術の一つとして位置づけられていると認められる。

他方、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症に関しては、一般の臨床現場では検査・診断が行われる必要性がない。メコン住血吸虫症については、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。タイ肝吸虫症はラオスの食文化によってプラジカンテルによる駆虫後も高い頻度で再感染することが明らかとなっている。プロジェクト・デザイン時には、これらの寄生虫病に対しても県保健局や郡保健局の検査施設に LAMP 法や PCR 法による高い感度、特異度の DNA 検出法を普及することが JICA の技術協力の成果として想定されていた (PDM に規定されていた) が、上述したような疾患の特性やラオスにおける現行の対策活動を考慮すれば、その意義はほぼないと考えられる。

しかしながら、プロジェクトが開発した感度や特異度の高い DNA 検出法は保健省の実施する能動的サーベイランスによる有病率調査の信頼性を大きく高めている。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り、保健省は IPL のラオスー日本寄生虫学ラボがこれらの疾患のリファレンス・ラボラトリーとして機能することを求めている。さらに、メコン住血吸虫症は患者数が大きく減少し、排除に近づいているからこそ、排除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 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。

## 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

プロジェクトの有効性はおおむね高い。

### (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、プロジェクトは終了時評価までに特にマラリアに関してラオスにおける流行状況（無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いる。特に、プロジェクトは通常

は感染状態が進行するまで診断されない顕微鏡診断陰性、迅速診断テスト陰性であるマラリア患者や、無症候性マラリア・キャリアのラオスにおける実態を明らかにしたことは、今後のマラリア排除に向けた重要な知見を得たことになる。また、薬剤耐性遺伝子の研究についても、現在の薬物治療で最も重要なアルテミシニンに対する耐性獲得の発生頻度を地域ごとに明らかにし、集団遺伝学的解析を行うことで、カンボジアを起源としてラオス南部から北上し、ラオス最北部まで到達していることを明らかとした。これは国境付近での人の移動に伴い、中国雲南省に侵入するリスクがあることを示しており、この研究結果をもとに雲南省の研究機関との共同研究(監視)が開始されるなど、本プロジェクトの研究成果が具体的な地域としてのマラリア対策に直接的に活かされていることを示している。また、三日熱マラリアの根治のための薬物療法実施の適用可否判断に重要な G6PD 欠損症に関する知見や、ラオスにおいて初めてのサルマラリアのヒト感染症例を発見するなど、その研究成果は多角的である。これらの研究成果は学術論文として国際誌に数多く発表されており、国内外の学会等でも数多くの発表がプロジェクトのメンバーによってなされている(2018年10月時点で国際誌に掲載された原著論文9報、国際会議での口頭発表39件、ポスター発表7件、日本国内学会での口頭発表18件)。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、プロジェクトは、マラリアに関してはラオスのみならず大メコン圏、世界のマラリア対策に資する研究成果を創出し、マラリア対策の政策や対策活動策定のエビデンスとして活用されるとともに、IPL がラオスや地域のマラリア対策実施に直接的に貢献していることから、研究成果と技術協力の両方の側面でプロジェクトの達成度は非常に高い。

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。プロジェクト開始前のプロジェクト枠組みデザインを実施した時点では、これらすべての疾患に対してプロジェクトが開発する DNA 検出法が地域の診断サービスに使用されることが想定されていたが、「妥当性」の項でも説明したとおり、疾患の特性やラオスにおける対策活動を考慮すれば、そのような使われ方は現実的ではない。すなわち、これらの検出法がラオスの臨床検査サービスに使用されることが想定されないため、ラオスにおいて公定法などの承認を得る必要もない。しかしながら、これらは感度、特異度の高い信頼性のある DNA 診断法として保健省や WHO の実施する有病率調査に使用されている。また、保健省も IHR 遵守の観点から IPL がこれらの疾患におけるリファレンス・ラボラトリーとして機能することを求めている。さらに、上述のマラリア対策同様、プロジェクトの長期専門家(NCGM 研究者)は保健省や WHO の主催する寄生虫症にかかわる対策会議にアドバイザー・メンバーとして参加しており、本プロジェクトの研究成果の共有や技術的アドバイスの提供などもプロジェクト期間を通して継続している。したがって、メコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症についても、当初の想定とは異なるかたちでラオスでの取り組みに貢献したといえる。特にメコン住血吸虫症は排除に向けて保健省や WHO 西太平洋事務局もその取り組みを強化しており、人獣共通感染症としての観点から動物の有病率調査も農業森林省との協働で実施された。本プロジェクトでは動物の血液や糞便中のメコン住血吸虫 DNA の検出をプロジェクトで開発した DNA 検出法を用い

て検査協力しており、ラオスの感染症対策におけるワンヘルス・アプローチ<sup>32</sup>実施にも貢献している。

他方、プロジェクトの研究活動を通して、マラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法については現場レベルでの運用を行ううえでの課題も明らかとなった。これの課題は本プロジェクトのスコップ外ではあるものの、この DNA 検出法がラオスだけでなく、世界のマラリア浸淫地域で活用されることを想定した場合には発生し得る課題を本プロジェクトの実施を通して抽出できたと考えられ、大きな意義があると考えられる。本件の詳細は、「インパクト」の項で検討する。

このように、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を図っていることから、終了時評価時点でプロジェクト目標はおおむね達成できていると認められる。

## (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大メコン圏（GMS）の 2030 年までのすべての種類のマラリア排除に向けて、ラオス保健省は「マラリア対策及び排除に向けた国家戦略 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 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、終了時評価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、終了時評価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 カ月で退職した。しかしながら、日本の大学で博士号を取得した NIOPH 所属（現 Lao TPHI）の研究者をパートタイム雇用し、退職した職員の補填とした。このスタッフは中間レビュー後に NCLE の副所長に昇任し、同組織と新たな協力関係の構築に貢献した。また、2018 年にはジュニア・サイエンティスト 1 名、技術補佐員 1 名が新たにメンバーとして IPL ラオスー日本寄生虫学ラボに加わった。このようなスタッフの異動等によってプロジェクトの成果やプロジェクト目標達成に負の影響は生じていない。なお、ラオスのマラリア対策、寄生虫病対策にかか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。

## (3) 有効性への促進要因

保健省 CMPE 及び WHO ラオスとの面談時に、プロジェクト（JICA 専門家及び IPL 研究者）はマラリア対策、寄生虫病対策を実施するうえで重要なデータや科学的知見、研究成果を提供する

32 人、動物、環境の衛生に関する分野横断的な課題に対し、関係者が連携してその解決に向けて取り組むという概念（厚生労働省ホームページより引用）。

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を行っている。

このような活動を通して構築された信頼関係、協力関係のうえで、プロジェクトの提供したエビデンスを活用して政策策定が行われたり、国の有病率調査に対する検査協力したり、調査活動費の支援を得たり、技術的、財政的な連携が実現している。このような、プロジェクトの研究活動と同時に研究成果の社会実装に向けた取り組み、特に関係機関との信頼関係・協力関係構築に努めたことは、ラオスの感染症対策に大きく貢献すると同時に、本プロジェクトの有効性を大きく高めたと考えられる。

#### (4) 有効性に対する阻害要因

終了時評価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

プロジェクトの効率性はおおむね高い。

#### (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) を要したケースが多く認められた。IPL の他のラボでも同様の問題が生じていることが中間レビュー時に確認されていた。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。中間レビュー以降も IPL は関係省庁に問題解決を訴えてきたが、終了時評価時点でも解決していない。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ものの、プロジェクトの円滑な進捗に負の影響を与えている。

また、プロジェクトは実施する研究項目に対して、ラオス及び日本で必要な倫理承認を取得したうえで研究活動を実施している。しかしながら、プロジェクトは国家保健研究倫理委員会に対して適切に申請を行っているが、標準的な審査期間を大幅に超えて結果が伝えられる場合も多い。特にマラリアやメコン住血吸虫症にかかわる調査は実施のタイミングを考慮する必要もあることから、同委員会は円滑な倫理審査の実施に向けて適切な改善がなされることが求められる。

他方、「3-3 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。また、IPL に駐在している JICA 長期専門家 (NCGM 研究者) が中心となり、NCGM をはじめ東京大学、琉球大学、東京医科歯科大学、順天堂大学などの日本の研究機関との共同研究にかかわる連絡調整は円滑になされていた。

なお、プロジェクトの業務調整員もプロジェクト期間終了の約1年前に交代したが、適切に業務の引き継ぎがなされ、ラオスにおけるさまざまな関係機関との連絡調整はプロジェクト期間を通しておおむね適切に実施された。

## (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。また、プロジェクトによる供与機器の一部は IPL の共同機器として他のラボにも使用されている。また、求めに応じて他のラボのスタッフが寄生虫学ラボの研究機器や設備等を使用したり、機器の使用法の指導を JICA 専門家が実施したりしている。このように、本プロジェクトの供与機材はプロジェクトだけでなく、IPL のすべてのラボの研究活動に有効に活用されている。

## (3) 本邦研修で獲得した知識・技能の有効利用

これまでに5名のラオス若手研究者が日本の研究機関で短期の研修を受講した(4名が NCGM、1名が琉球大学)。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、保健省 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できることが見込まれている。また、琉球大学の修士課程に留学していた Lao TPHI スタッフが 2017 年 10 月に修士の学位を取得し、元の職場に復帰している。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じた寄生虫病診断にかかわる基礎研修を実施した。また、2016 年からは年 1 回のリフレッシュ研修も継続されており、プロジェクト期間終了後も NCGM が IPL と協力して継続することが見込まれている。終了時評価の現地調査では、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) 外部リソースとの連携

### 1) WHO など他の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、保健省主導のもとで WHO や 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、プロジェクトはプロジェクト期間を通して WHO などのパートナー機関と積極的に情報交換・提供を継続している。

その結果として、2018 年に保健省が WHO の支援を受け、農業森林省と連携して実施したメコン住血吸虫症の動物の感染状況調査に対して、本プロジェクトが LAMP 法による DNA 検出法で動物の血液、糞便の検査を担当した。プロジェクトはこの調査に対して WHO から資金サポートを得たため、プロジェクトの予算を使用せずに貴重な動物の感染状況に関する疫学情報を得ることができた。さらに、この調査を通じて農業森林省との協力実績が得られたことから、今後も更にセクター横断的な活動に発展することが期待される。

### 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)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、保健省と協議のうえで 2015 年に IPL、保健省 CMPE、ルアンパバーン県、サバナケット県、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)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ム法に基づく迅速診断テストよりも顕著に検出感度の高い LAMP 法の導入により、顕微鏡診断・迅速診断テスト陰性のマラリア患者や無症候性マラリア・キャリアを適切な治療につなげる期待は高い。しかしながら、県レベルで Loopamp™ を導入した SMPE では種々の理由により十分な検査数が確保できなかったため、プロジェクトは栄研化学(株)の支援のもとでプロジェクト期間終了までに更に 5 台の LAMP 検出器を浸淫地域の郡保健局に導入し、プロジェクト期間終了後も症例を蓄積するとともに、無症候性マラリア・キャリアにかかわる研究活動を進める予定である。

#### (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、上記したような 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、効率良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の観点から、プロジェクトの効率性に対する促進要因として整理できる。

また、上述したようにプロジェクトは保健省や WHO、更には農業森林省などさまざまなパートナー機関と協力、協調しながらプロジェクト活動を継続してきており、効率的な活動の実施や成果創出に貢献している。

#### (6) 効率性に対する阻害要因

上記「(1) 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。IPL は保健省や財務省に改善を訴え続けてきたが、終了時評価時点でも解決していない。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。中間レビュー調査ミッションもこの問題を確認し、関係機関に対して改善を提言したものの、終了時評価時点でも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 2015 年の IPL 年次総会でも議題とされていた。これまで示してきたとおり、IPL ラ

オスー日本寄生虫学ラボはラオスの感染症対策に資する多くのエビデンスを供給しており、IPL は既にラオスの感染症対策の実施体制の一部として認識されている。つまり、IPL での国際共同研究はラオスの感染症対策の一部を直接的、間接的に実施することと同義であることから、保健省や財務省は本件解決に向けた取り組みを一層強化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。

##### (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」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。

「3-3 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ー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おり、終了時評価時点ではラオスの若手研究者の研究能力はプロジェクト開始時と比較して飛躍的に向上したことを確認した。また、IPL のラオス人若手研究者は JICA 長期専門家 (NCGM 研究者) が参加する保健省や WHO などのパートナー機関で実施される会議等に同行し、ラオスの感染症対策や研究成果の社会実装にかかわる実務を学んでいる。とはいえ、本プロジェクトに従事、協力しているラオス人研究者は若手研究者であるため、彼らだけで本プロジェクトで実施した研究を完全に委譲することは当初から想定されていない。また、これまで示したとおり、IPL ラオスー日本寄生虫学ラボは既にラオスの感染症対策の実施体制の一部に組み込まれていると認識されており、NCGM も日本の企業 2 社からの資金協力や科学研究費等を得て IPL での共同研究を維持する予定であることから、本プロジェクトで得られた研究成果や能力強化を強固な土台として、今後も更に向上、発展されることが大いに見込まれる。

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、Lao TPHI 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) その他の正のインパクト

###### 1) 栄研化学(株)との共同研究によるマラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法に対する WHO 事前承認取得に向けた取り組み

NCGM はプロジェクト期間終了後も継続してラオスで「Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit」を用いた臨床検査症例を蓄積する予定である。このキットは「何らかのマラリア」及び「熱帯熱マラリア」の検出を可能としているが、栄研化学(株)は近年、東南アジア地域で重要な三日熱マラリア DNA の検出を可能とするキットを開発した。これらが実用化すれば、顕微鏡診断・RDT

診断陰性マラリア患者が適切に薬物治療へとつなげられる。栄研化学㈱は NCGM と協力し、ラオスでの結果とタイでの別の共同研究の結果も併せて同キットの臨床性能を検証し、まずは日本で医薬品医療機器総合機構（PMDA）の承認を取得し、その後、WHO の事前承認に申請を行う予定である。本プロジェクトの日本側チーフ・アドバイザー（NCGM 研究者）は既に WHO 事前承認に向けて WHO 担当者とのコンサルテーションを実施するなど、具体的な準備を進めている。

将来的に同キットが WHO 事前承認を取得でき、多くの地域に販売できる見通しが得られれば、試薬コストを大幅に低下させることが可能となり、世界の顕微鏡診断・RDT 診断陰性マラリア患者や無症候性マラリア・キャリアの検出に大きく貢献することが期待される。

他方、LAMP 法によるマラリア診断のための DNA 検出法が導入された 3 県の SMPE はマラリア患者が多く発生する地方部からは遠く離れており、地方部の医療従事者の周知も十分になされていなかったことから、当初想定したような頻度で活用されていない。プロジェクトは今後更に 5 台の LAMP 検出器を栄研化学㈱の協力を得て浸淫地域にある郡の医療施設に導入予定であるが、導入時には関係者へ十分周知する活動を行うとともに、LAMP 法による遺伝子診断を行う対象患者選定のためのアルゴリズム作成や検体移送方法など、実際の運用方法も併せて導入する必要がある。他方、プロジェクトはラオスの一般的な検査室の環境において保存中の試薬が湿気で劣化し、測定結果に影響する（擬陽性）場合があることを確認した。LAMP 法に基づくマラリア DNA 検出法は東南アジアやアフリカのような高温多湿のマラリア流行地域での使用が想定されることから、栄研化学㈱は WHO への事前承認申請までには試薬を個別包装するなど、製品としての改良が実施されることが望ましい。

## 2) ネオファーマ・ジャパン株式会社との共同研究による抗マラリア活性物質研究への取り組み

NCGM は外資系日本企業と、5-アミノリブレン酸（5-ALA）の抗マラリア活性にかかわる共同研究を開始する予定である。5-ALA は日本においては健康補助食品として発売されているが、無症候性マラリアのマラリア原虫駆除の可能性が期待されている。ラオスにおいてはマラリア流行地域の住民に一定期間サプリメントとして摂取してもらい、マラリア原虫に対する作用を調査する予定である。

この共同研究は、本プロジェクトを通して得られた研究成果やラオスでの関係機関との強固な協力関係の土台のうえで発展されることから、本プロジェクトのインパクトとして整理できる。

## 3) メコン住血吸虫症の有病率調査を通じた農業森林省との連携とワンヘルス・アプローチへの発展

「効率性」の項で触れたが、2018 年に保健省は WHO の支援を受け、農業森林省と連携して実施したメコン住血吸虫症の動物の感染状況調査を実施し、本プロジェクトは LAMP 法による DNA 検出法で動物の血液、糞便の検査を担当した。これにより、保健省や IPL など保健セクターと動物セクターとの連携実績が得られた。感染症の約半数は人獣共通感染症と考えられており、メコン住血吸虫症をはじめとしてセクター間連携のもとでワンヘルス・アプローチを推進する必要がある。

本プロジェクトの協力メンバーが副所長を務める NCLE は動物センターとの連携を重視しており、National Animal Health Laboratory と連携協力に関する覚書 (Ministry of Understanding: MoU) を締結している。上のレベルでも DCDC と農業森林省家畜水産局と MoU が締結されている。

NCLE は IPL もこの連携に加わることを推奨しており、これらの連携が強化されれば、One Health アプローチのプラットフォームとして一層ラオスの感染症対策に寄与できると考えられる。

#### 4) 本プロジェクトの研究成果に基づいた新たなマラリア薬物併用療法の検討

プロジェクトはアルテミシニン耐性マラリアのラオスにおける頻度と拡散状況を分子疫学的手法を用いてモニタリングしており、その結果はラオス保健省や WHO に共有されている。このプロジェクトによる情報と LOMWRU の情報をもとに、ラオス保健省は WHO と標準的なマラリア治療薬 Coartem<sup>®</sup> (Artemether + Lumefantrine) に変わる併用療法 (pyronaridine + artesunate、artesunate + mefloquine 及び dihydroartemisinin + piperazine) をラオスで導入する可能性について導入試験を南部の県で実施している。

このように、本プロジェクトの研究成果がラオスのマラリア薬物治療の最適化に向けた保健省、WHO の活動に貢献したと考えられ、本プロジェクトのインパクトとして整理できる。

#### 5) 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。

具体的な協力事例として、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もとで「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) が加わるかたちで、分野横断的な疫学研究を実施する予定である。

また、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。技術移転は実験手技だけではなく、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-mail 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「ラオス国家保健研究フォーラム」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。

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。

#### 6) 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いる。また、大阪大学や国際医療福祉大学、慶応大学などからのスタディーツアーも数多く受け入れており、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。

#### (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、終了時評価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、自己展開は一定程度見込まれる。

#### (1) 政策的、制度的側面

「4-1 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。特にマラリアに関しては2025年までの熱帯熱マラリアの排除、2030年までのすべて型のマラリアの排除に向けて保健省はWHOなどさまざま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。

また、本プロジェクトが終了する2019年5月以降もIPLでの日本側研究機関はラオスでの共同研究を継続する。これまでも研究機関と行政とのさまざまな連携により効果的な感染症対策活動がなされてきたが、プロジェクト期間終了後も日本の研究機関のラオスでの共同研究の実施や研究成果の活用に対して保健省をはじめとする関係機関は一層の支援がなされることが望ましい。

他方、「インパクト」の項でも触れたが、今後の感染症対策を行ううえでセクターを超えた連携が研究機関だけでなく、研究成果のユーザーである行政機関も含めて推進する必要がある、そのためのプラットフォーム作りは急務である。研究機関間の個別の連携はこれまでも単発的に実施されているが、ワンヘルス・アプローチ推進に向けて関係省庁は戦略的にプラットフォーム作りなどを進めることが必要である。

#### (2) 財政的側面

これまで示してきたとおり、NCGMは日本の民間企業による財政支援や科学研究費等を活用して、プロジェクト期間終了後もIPLでの共同研究を継続することが決定している。また、IPLも米国の財団から財政支援を受けて2つのプロジェクト（Arboshield Project及びBioLao Project）を実施しており、これらの予算の一部が2018年7月よりIPLのすべてのラボで使用できるようになった。具体的には、各ラボで実験用消耗品購入のために毎月1,000ドルが提供され、2年間継続される見込みである。したがって、プロジェクト期間終了後も当面はIPLでの共同研究維持のための予算は確保された。

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。共同研究等によるラオス人研究者の能力強化が継続されれば、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、将来的に財政的持続性の向上にも貢献すると考えられる。

### (3) 技術的側面

上述のとおり、NCGM はプロジェクト期間終了後も IPL での共同研究を継続することが決定しており、プロジェクトを通して備えられた研究技術、検査技術等は引き続き IPLに残るとともに、これまで同様に研究成果や技術的アドバイスはラオスの感染症にかかわる関係機関に共有される見込みである。

他方、「有効性」の項でも示したが、本プロジェクトを通じてラオス人若手研究者の能力は飛躍的に向上したものの、研究者能力の向上は長期的視点で実施する必要がある。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ことが決定しているが、ラオス人研究者も引き続き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。

### (4) 総合的持続性

終了時評価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

終了時評価の結果として、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、プロジェクトは終了時評価時ま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大いに期待できる。

具体的には、プロジェクトはラオスの感染症対策に資する科学的エビデンスの供給や技術的アドバイス、National Survey への調査協力などを通して関係省庁及びパートナー機関等との信頼関係を構築するとともに、関係機関との連携、協調のもとでプロジェクトを前へと進めた。その結果、さまざまな科学的研究成果を創出し、ラオスでの感染症対策に直接的に貢献してきた。

マラリアについては、地方の医療従事者へ技術研修により協力関係が構築され、数多くの検体を収集し研究を進めた結果、マラリア排除に向けた取り組みを強化するうえで重要な無症候性マラリア・キャリアの現状を明らかにした。さらに、薬剤耐性マラリアの発生や拡散に関する重要な知見を得、新たな国際共同研究（監視）への発展などのインパクトも認められている。

他方、メコン住血吸虫症及びタイ肝吸虫症研究についても、プロジェクトは新しいテクノロジーを用いた DNA 検出法の開発を行い、協力期間内に技術的にはおおむね完成したといえる。これらの DNA 検出法は IPL で診断法として確立し、IPL はこれらの疾患のリファレンス・ラボラトリーとして機能しており、保健省等の実施する有病率調査にも活用されている。

これらの知見や研究成果は国際誌への掲載を通して世界に発信されており、学会発表等の実績も多いことから、プロジェクトを通じて得られた研究成果は極めて大きい。また、プロジェクトは検体

収集活動などのフィールド活動の機会を捉え、地域住民に対する感染症予防に向けた健康教育等も地域の保健医療人材と協力して実施しており、多角的なアプローチにより住民の健康向上にも貢献している。プロジェクトは研究活動を通じたラオスの若手研究者の育成にも一貫して取り組んでおり、IPL ラオスー日本寄生虫学ラボのスタッフも国内外のカンファレンス等で英語での口頭発表を実施できるレベルにまで到達している。研究者として独り立ちするためには更なる自己研鑽や日本人研究者などからの指導の継続も必要になるが、JICA の技術協力としての観点でも大きな成果が認められた。

プロジェクト終了後も日本側研究実施機関は企業からの研究資金協力や日本の科学研究費等を利用して IPL での国際共同研究を継続することになっており、マラリア遺伝子診断キットの WHO 事前認証取得に向けた準備を進めるとともに無症候性マラリア・キャリアの詳細な研究、更には抗マラリア活性物質にかかわる研究への発展等が計画されており、今後も引き続き科学的研究成果のみならず、ラオスの感染症対策への貢献が期待される。

## 第5章 提言と教訓

### 5-1 提言

終了時評価の結果に基づき、終了時評価チームは以下のとおり提言する。

#### (1) プロジェクトに対して

##### 1) One Health アプローチの推進

プロジェクトは、農業森林省との合同調査を行うなど、セクター間連携の実績を積んでいる。効果的、効率的な感染症対策のためのセクターを超えた連携の重要性にかんがみ、今後はより一層の One Health アプローチ推進に向けて、定期的なセクター間連携会議の開催など、One Health プラットフォーム構築に向けた具体的な取り組みを行うことが望ましい。

##### 2) LAMP 法によるマラリア DNA 検出法を用いた検査運用方法の決定と導入に際する関係者への周知・説明

プロジェクトは今後更に 5 台の LAMP 検出器を栄研化学㈱の協力を得て浸淫地域にある郡の医療施設に導入予定であるが、導入後適切に活用されるよう導入時には関係者へ十分周知する活動を行うとともに、LAMP 法による遺伝子診断を行う対象患者選定のためのアルゴリズム作成や検体移送方法など、実際の運用方法も併せて導入する必要がある。

なお、プロジェクトはラオスの一般的な検査室の環境において保存中の試薬が湿気で劣化し、測定結果に影響する（擬陽性）場合あることを経験した。このような問題は東南アジアやアフリカのような高温多湿のマラリア流行地域ではどこでも起こり得る。無症候性マラリア・キャリアの大規模調査などでは現在の試薬包装で問題ないが、実際の検査室での使用を想定した場合は、プロジェクトはこのような問題解決に向けて開発メーカーである栄研化学㈱と協力し、試薬の個別包装などユーザーの技術や操作に影響されないような製品としての改良に向けて一層の努力を行うことが望ましい。

#### (2) 保健省に対して

##### 1) 地方部の臨床検査ラボの品質管理向上

プロジェクトの研修等を通して地方部の臨床検査ラボ人材の能力強化を図ったが、本プロジェクトで導入したマラリア診断のための LAMP 法による DNA 検出法による結果に対する品質管理を行ううえでの課題を認めた。具体的には、上記検査の SOP は作成され、プロジェクト専門家及び栄研化学㈱のスタッフによる指導がなされているが、ラボスタッフが適切に SOP 遵守しているかを確認するメカニズムは存在していない。本件は本プロジェクトのみならずラオスのラボ全体の品質管理の課題として認識されるため、保健省、NCLE は国全体の臨床検査ラボの内部制度管理システムを構築・強化する取り組みを早急に開始することが求められる。

##### 2) 関係ドナーとの連携による研修効率の向上

プロジェクトで実施している地方部のラボスタッフや行政官への研修について、WHO や他のパートナー機関などが提供しているさまざまな研修と調整・協調し、重複なく効果的に行われるよう、保健省 DCDC が適切に連絡調整を行うメカニズムを構築することが望ましい。

##### 3) 試薬や研究機器、設備等に対する無税通関許可に関する状況改善

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。

なお、このような無税通関許可に関する問題は保健省のみで解決できるものではなく、財務省や計画投資省、その他の関係機関が関与する複雑な問題である。ただし、IPL内のすべてのラボだけでなく、ラオスの研究機関も同様の問題を抱えている。つまり、このような関係省庁はこの問題のラオスにおける感染症対策に及ぼす負の影響を認識し、特に保健省が中心となって問題解決のための省庁間協議の実施など、より一層の努力を行うことが望ましい。

#### 4) 研究プロポーザルに対する円滑な倫理審査の実施

プロジェクトは実施する研究項目に対して、ラオス及び日本で必要な倫理承認を取得したうえで研究活動を実施している。しかしながら、プロジェクトは国家保健研究倫理委員会に対して適切に申請を行っているが、標準的な審査期間を大幅に超えて結果が伝えられる場合も多い。特にマラリアやメコン住血吸虫症にかかわる調査は実施のタイミングを考慮する必要もあることから、同委員会は円滑な倫理審査の実施に向けて適切な改善がなされることが求められる。

#### 5) IPLでの日本の研究機関による国際共同研究推進に向けた一層の協力

JICAの技術協力としての支援は2019年4月末日に終了するが、日本のプロジェクト実施機関はそれ以降も継続してIPLでの国際共同研究を継続する予定である。保健省はIPLを政策策定に資するエビデンス供給機関、病原体診断のための国家リファレンス・ラボラトリー、National Survey実施協力機関としての重要性を改めて認識し、国際共同研究への支援を更に強化するとともに、各種感染症対策会議への日本人、ラオス人研究者の積極的な巻き込み、研究成果の具体的な活用を積極的に推進することが望ましい。

### (3) ラオス人若手研究者に対して

#### 1) 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などの能力強化の選択肢を増やし、プロジェクト終了後も引き続き自己研鑽を積むことが勧められる。

## 5-2 教訓

### (1) 研究成果の社会実装を念頭に置いた積極的な関係機関への情報共有の重要性

本プロジェクトではSATREPSの事業目的をよく理解し、マラリア及びメコン住血吸虫症、タイ肝吸虫症に関する数々の科学的エビデンスを、保健省やWHOなどの関係機関にタイミング良く効果的に共有している。ラオスに駐在するJICA長期専門家（NCGM研究者）はラオスのさまざまなレベルの対策会議等に参加し、情報共有のみならず、専門的見地からのアドバイスや共同事業の調整などを行い、ラオスや大メコン圏などの地域の感染症対策に大きく貢献してきたことで、本プロジェクトの妥当性や有効性、インパクトを最大限に高めた。

特に大学などの多くの研究機関では研究成果の機密性保持の観点から、学術誌等で公表するまでは情報を公開しない場合が多い。しかしながら、SATREPSは将来の研究成果の社会実装を意識

した事業であることから、プロジェクト期間内から常に研究成果の将来のユーザー（関連省庁など）との情報共有や連携を行うとともに、ニーズに即した支援をタイムリーに行うことも、SATREPS の事業目的の達成に必要である。

## (2) 現地常駐研究者の配置

本プロジェクトでは日本側実施機関から研究者を現地に常駐させ、国際共同研究の実施だけでなく関係機関とのマネジメントも専従として実施した。そのような実施体制を敷いたことで円滑な研究体制の構築や技術協力プロジェクトとしての人材育成が行えたとともに、ラオス政府や国際機関へのタイムリーな技術的支援につながった。

SATREPS では研究成果の社会実装を念頭に置いた事業であることから、国際共同研究の効果をより高めるためには、相手国期間に可能な限り常駐の研究者を配置し、研究成果の機密性には配慮しながら積極的に相手国のみならず地域の国際機関等と情報共有や連携を行うことが望まれる。現地に常駐する研究者により、研究体制の強化、人材育成、政府や国際機関への技術的支援が適宜行える。SATREPS での研究成果をより高めるために、研究班は常駐者を置くことが強く望まれる。

## 第6章 団長総括

ラオスの SATREPS の詳細設計調査、中間レビュー調査に引き続き、終了時調査の団長をした。実質的に共同研究開始前から、終了時（終了の半年前）まで、一貫して担当することになった。

ラオスで問題となっている寄生虫疾患のなかで3疾患マラリア、メコン住血吸虫、タイ肝吸虫が対象とされた。研究開始前から方向性が異なっていたものの、大きな研究成果、新たな知見が得られた。

### (1) マラリア

重症化しやすい熱帯熱マラリアの患者数、死亡者数は減少してきた半面、三日熱マラリアの患者が相対的に増えている。マラリア患者対策が功を奏しているようであるが、発熱などの症状がはっきりしない無症候性マラリアへの対策が必要であることがわかってきた。無症候性マラリア患者は潜在的リザーバーとなる可能性があることから、今後の対策の重要なターゲットとなる可能性が本プロジェクトによって指摘されている。また、アルテミシニン耐性マラリア原虫がラオス南部から徐々に北上（拡散）していることが確認された。このようなプロジェクトの知見に基づき、ラオスと国境を接する中国雲南省とのマラリア対策の連携が必要で共同研究が開始されるなど、具体的な対策活動の実施につながっている。

### (2) 無症候性マラリア

従来の簡易検査キットや顕微鏡検査で検査されてこなかった無症候性マラリア患者の検出のため、感度、特異度の高い検査法の導入が求められている。栄研化学㈱による LAMP 法による遺伝子診断法は上記検査の測定感度以下のマラリア感染も検出することができる。より詳細なデータを取りまとめ、WHO の事前承認取得に向け一層の努力がなされるよう期待したい。

### (3) メコン住血吸虫症

疾病の分布域が限られており、媒介する貝や寄生虫の状態が川の水位に影響があることが示唆された。国内の患者が減少しているが、流行域の動物（イヌ）から吸虫卵が見つかるなど、人獣共通感染症の視点から農業森林省などの他省庁の連携を強め、早期の根絶をめざすことが望まれる。

### (4) タイ肝吸虫症

詳細計画策定調査時に、生の川魚を食べるというラオスの食習慣・食文化に介入することは困難という議論があった。「生の魚から感染するリスクがある」という知識を得ても、長年の食の嗜好を変えることは困難であることが確認された。

また、同一地域でも家族内の感染者数が異なっていることがあり、家族内に陽性者が多い家族やそうでない家族の生活習慣（特に、調理時の手順）を確認するなど、別のアプローチが必要となるのであろう。

### (5) ラオス人若手研究員の能力向上も重要な点で、研究能力だけでなく、英語を使つてのコミュニケーションや国内外での研究発表が行えるようになってきた。引き続き、英語学術雑誌の抄読、情報収集などで、自己研鑽に励んでほしい。

(6) 研究成果の得られた研究で、研究成果がラオス保健省や WHO の方向性を判断する材料として活用されており、社会実装が達成されていると感じる。SATREPS の共同研究期間は 2019 年 4 月で終了するが、NCGM 他の関係者の支援により研究が継続される見込み。

今後も研究成果、人材育成等につき注視していき、支援が適宜続くことが望まれる。



## 付 属 資 料

協議議事録（2018年10月19日署名）



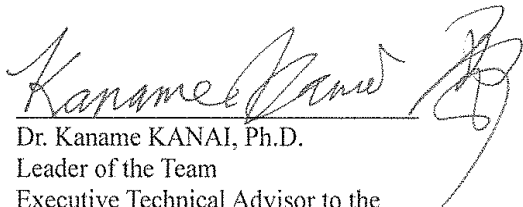
MINUTES OF MEETINGS  
BETWEEN  
JAPANESE TERMINAL EVALUATION TEAM  
AND  
THE AUTHORITIES CONCERNED OF THE GOVERNMENT OF  
THE LAO PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC  
ON THE JAPANESE TECHNICAL COOPERATION  
FOR  
THE PROJECT FOR DEVELOPMENT OF INNOVATIVE RESEARCH TECHNIQUE  
IN GENETIC EPIDEMIOLOGY OF MALARIA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

The Japanese Terminal Evaluation 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 October 2<sup>nd</sup> to 19<sup>th</sup> 2018 for the purpose of Terminal Evaluation on “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” (hereinafter referred to as “the Project”).

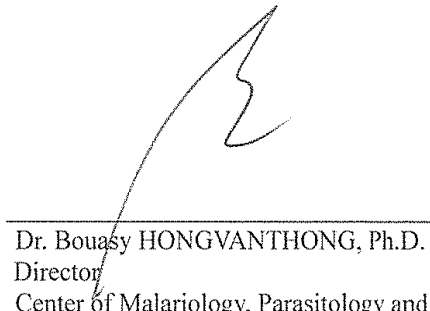
During its stay in the Lao PDR, the Team reviewed the achievement of the Project and had a series of discussions with authorities concerned of the Lao PDR for further improvement of the Project.

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

Vientiane, October 19<sup>th</sup>, 2018



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



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



## ATTACHMENT

Recognizing the achievement of the Project and appreciating the efforts made by the Project members, the Team compiled the result of the Terminal Evaluation Report attached hereto. Both sides confirmed the contents of the Terminal Evaluation Report. The conclusion and recommendations are described below.

### 1. Conclusion

The Terminal Evaluation Mission confirmed that "*Relevance*" of the Project has highly been maintained, and that "*Effectiveness*", "*Efficiency*", and "*Sustainability*" were also generally high. The Project has also created a number of positive "*Impact*" as of the time of the Terminal Evaluation; thus, it is expected to contribute significantly to the countermeasure of malaria and parasitic diseases in Lao PDR in future.

In particular, the Project has established the cooperative relationships with relevant ministries, national agencies and other partner organizations by providing scientific evidences and technical advices as well as by assisting the national surveys, which are beneficially utilized for the infectious disease countermeasures in the Lao PDR. Under such liaison and cooperation, the Project also proceeded various project activities to date. As the result, various scientific research results have been created, and it has directly contributed to the infectious disease countermeasure in the Lao PDR.

With regard to malaria, as a result of the establishment of cooperative relationship with local health professionals through the provision of technical training to them, the Project obtained sufficient number of clinical samples from malaria suspected patients and analyzed them proactively; consequently, the Project revealed that the present state of asymptomatic malaria carriers, which is recently regarded to be important for strengthening the initiatives for malaria elimination. In addition, the important research findings and outcomes on the emergence and diffusion of the drug-resistant malaria are gained, which had impacted to the commencement of novel international research collaboration (supervision) for preventing from crossing border.

On the other hand, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini research, the Project had developed DNA detection methods based on the novel gene amplification technology, and the developing work for the methods has largely been completed from a technical standpoint within the cooperative period. These DNA detection methods are established as diagnostic methods in Institut Pasteur du Laos (hereinafter referred to as IPL), enabling the IPL to function as a reference laboratory for these diseases, and are also used for the national prevalence surveys conducted by the Ministry of Health (hereinafter referred to as MOH).

These research findings and outcomes are disseminated to the world through the publications of research articles in international journals, and many presentations has also been made at academic conferences. Thus, the achievement of the Project from an academic standpoint is very large. Besides, by taking the opportunities of field sampling activities, the Project has been providing health education regarding the prevention of infectious diseases geared to community residents jointly with the health professionals, resulted in the steady contribution to the community health. The Project has also consistently addressed the fostering of Laotian young researchers through its research activities, and the staff of the IPL Lao-Japan Parasitology Laboratory has reached the level where they can make oral presentations in English at domestic and international conferences at the time of the Terminal Evaluation. Though further self-study and continuation of guidance from Japanese researchers are also required to stand alone as researchers, it is deemed that the Project has made a significant achievement from the viewpoint of JICA's technical cooperation.

Even after the completion of the Project, Japanese research institutes are supposed to continue international joint research at the IPL by utilizing research funding from companies and

scientific research grants in Japan. The Japanese research institutes will move on to the preparations for the acquisition of World Health Organization (hereinafter referred to as WHO) pre-certification for the Loop-mediated Isothermal Amplification (hereinafter referred to as LAMP)-based malaria DNA diagnostic kit, detailed research on asymptomatic malaria carriers, and further, novel research on the substance with antimalarial activity. Those international collaborative researches are also anticipated to continuously contribute not only to scientific research outcomes but also to the countermeasure of infectious diseases in the Lao PDR hereafter.

## 2. Recommendations

### (1) To the Project

#### ● Promotion of the "One-Health" approach

The Project had gained an experience of inter-sector collaboration with the Ministry of Agriculture and Forestry, such as the implementation of the joint survey. From the aspect of the significance of the collaboration with other organizations, it is anticipated that this kind of cross-sectoral activities such as the regular cross-sectoral meeting become widely be done, in order to promote the "One-Health" approach.

#### ● The effort to explanation of the practical operational procedures at the time of introduction of LAMP detectors

The Project is planning to introduce another five LAMP detectors to district health facilities in the areas of high malaria endemicity, and continue accumulating clinical cases even following the completion of the Project. At the time of introduction, it is necessary that the Project should put efforts to publicize the performance and utilization of the kit to the local stakeholders; at the same time, to introduce the practical operational procedures of the testing services, such as algorithms for selecting eligible patients for genetic diagnosis by LAMP method and specimen transfer method, etc.

Meanwhile, the Project experienced that LAMP reagents under storage could easily deteriorate with moisture, enough to affect the measurement results as false positive, in usual environment of laboratories in the Lao PDR, and the problem can happen in hot and humid malaria-endemic areas such as Southeast Asia and Africa where the LAMP-based malaria DNA detection methods were expected to be used. Though the current reagent packaging would not cause any problem of the testing results in the usage of mass survey of asymptomatic malaria carriers, it is recommended for the Project, jointly with the Eiken Chemical Co., Ltd., to resolve the problem by improving the "Product", such as individual packaging of reagents, in consideration the usage in practical clinical settings.

### (2) To the MOH

#### ● Improvement of internal quality control system in local clinical laboratories

Capacity of local laboratory staff has significantly been enhanced through the implementation of the Project, it is confirmed that a problem concerning the quality control toward laboratory testing results from the LAMP-based DNA detection method for diagnosing malaria, introduced by the support of the Project. In particular, the Project, with the support of the Eiken Chemical Co., Ltd., developed and introduced the Standard Operating Procedure (hereinafter referred to as SOP) for the said testing by providing the staff with its training; nevertheless, it is found that there is no monitoring mechanism for the compliance of the SOP. This is regarded not only the issue of the Project but also a challenge of the clinical laboratories in whole country; therefore, it is recommended that the National Center for Laboratory and Epidemiology, in charge of laboratory quality control and assurance, will take action for the construction and even improvement of the Internal Quality Control (IQC) mechanism immediately.

#### ● Coordination with related development partners for more effective trainings.

Regarding the training on communicable diseases for the lab staffs and officers in rural area

which was provided by the Project, Department of Communicable Diseases Control and other relevant departments within MOH should continue to work closely and coordinate with WHO and other partners which are conducting various trainings, in order to make them more effective without duplication.

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

When reagents, 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 Discussion. 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.

Having said that, it is acknowledged that this issue cannot be solved by the MOH alone but is regarded as a complex issue involving the Ministry of Finance, the Ministry of Planning and Investment, and other relevant agencies. Not only all laboratories in the IPL but also any research institutes engaged in the infectious disease control in the Lao PDR are being affected by the issue. In other words, the relevant ministries and agencies should acknowledge the negative impact of the issue on infectious disease countermeasures in the Lao PDR, and are expected to make further efforts to resolve the issue, at the initiative of the MOH, by convening inter-ministerial consultations and so on.

- Smooth implementation of ethical review for the research proposal

The Project implemented researches following the acquisition of ethical clearance by the relevant authorities concerned both in Japan and the Lao PDR. Accordingly, the Project submitted research proposals to the National Ethics Committee for Health Research properly; however, it took, in many time, more-than-expected time for the Project to receive the results of the review by the Committee. The Project sometimes have to put a special consideration for the timing of survey especially for malaria and Schistosomiasis mekongi, thus, the Committee is recommended to improve this situation for smooth implementation of ethical reviewing.

- Further cooperation to promote international joint research work in IPL with Japanese research institutes

The Japanese research organizations such as National Center for Global Health and Medicine are anticipated to continue the joint research at the IPL even following May 2019 when the cooperation period is over. MOH should provide more support to the implementation of joint research and the utilization of research findings and outcomes for policymaking, implementing countermeasures, etc. in the Lao PDR, because of the importance of IPL as the national referral laboratory for the investigation of parasitic diseases and for provision of evidences for policy making and as a cooperation agency for national surveys. It is expected that the MOH will involve Lao and Japanese researchers to participate in conferences on countermeasures for infectious diseases and promote the utilization of research findings more actively.

### (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 continue self-help efforts even following the termination of the Project further, such as reading more English papers, holding journal club, capturing novel scientific information, obtaining Ph.D. degree in the future, and increasing other options for capacity enhancement.



APPENDIX: Terminal Evaluation Report

END




TERMINAL EVALUATION 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



19 October 2018



## TABLE OF CONTENTS

|   |    |
|---|----|
| ABBREVIATIONS.....  | 3  |
| CHAPTER 1 SCOPE OF TERMINAL EVALUATION.....   | 4  |
| 1.1 BACKGROUND OF THE TERMINAL EVALUATION.....  | 4  |
| 1.2 OBJECTIVES OF THE TERMINAL EVALUATION .....   | 4  |
| 1.3 TERMINAL EVALUATION TEAM .....  | 4  |
| 1.4 FRAMEWORK OF THE PROJECT .....  | 5  |
| CHAPTER 2 METHOD OF THE TERMINAL EVALUATION .....   | 8  |
| 2.1 FRAMEWORK OF PROJECT REVIEW UNDER SATREPS .....   | 8  |
| 2.2 METHODOLOGY OF THE EVALUATION.....  | 8  |
| 2.3 FIVE EVALUATION CRITERIA .....  | 8  |
| 2.4 LIMITATION OF THE MEASUREMENT OF ACHIEVEMENT LEVELS OF THE OUTPUTS<br>AND THE PROJECT PURPOSE ON THE BASIS OF PDM VERSION 1 ..... | 9  |
| CHAPTER 3 PROJECT PERFORMANCE.....  | 10 |
| 3.1 INPUTS .....  | 10 |
| 3.2 ACHIEVEMENTS OF THE PROJECT .....   | 11 |
| 3.3 IMPLEMENTATION PROCESS .....  | 41 |
| 4 CHAPTER 4 EVALUATION RESULTS .....  | 43 |
| 4.1 RELEVANCE .....   | 43 |
| 4.2 EFFECTIVENESS .....   | 46 |
| 4.3 EFFICIENCY.....   | 49 |
| 4.4 IMPACT .....  | 52 |
| 4.5 SUSTAINABILITY.....   | 56 |
| 4.6 CONCLUSION.....   | 57 |
| CHAPTER 5 RECOMMENDATIONS .....   | 59 |
| ANNEXES   |    |
| Annex 1: PDM version 1 (February 25, 2015)  |    |
| Annex 2: Schedule of Terminal Evaluation  |    |
| Annex 3: Evaluation Grid  |    |
| 3-1 Verification of Implementation Process  |    |
| 3-2 5 Five Evaluation Criteria  |    |
| Annex 4: List of Interviewees   |    |
| Annex 5: List of Inputs   |    |
| 5-1 List of Project Members   |    |
| 5-2 JICA 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. <i>Schistosoma mekongi</i> and <i>Opisthorchis viverrini</i>                               |    |
| Annex 7: List of Published Scientific Papers  |    |

### 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 Laos  |
| IRB      | Institutional Review Board  |
| JAXA     | Japan Aerospace Exploration Agency                                      |
| JCC      | Joint Coordinating Committee  |
| JICA     | Japan International Cooperation Agency                                  |
| JST      | Japan Science and Technology Agency                                     |
| Lao TPHI | Lao Tropical and Public Health Institute                                |
| LAMP     | Loop-mediated Isothermal Amplification                                  |
| LLINs    | 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                          |
| NCLE     | National Center for Laboratory and Epidemiology                         |
| NIOPH    | National Institute of Public Health                                     |
| ODA      | Official Development Assistance   |
| OVI      | 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 TERMINAL EVALUATION

### 1.1 Background of the Terminal Evaluation

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 anthelmintic 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*") from May 2014 with the Lao counterpart organizations of the Center of Malariology, Parasitology and Entomology (hereinafter referred to as "*CMPE*") and Institut Pasteur du Laos (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 Terminal Evaluation was carried out with the objectives for grasping the whole progress of the international collaborative research as well as the generation of research findings and outcomes and for evaluating 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 evaluation results, recommendations were provided to ensure the achievement of the Project Purpose by the end of the project period as well as to consolidate the sustainability of Project's achievements.

### 1.2 Objectives of the Terminal Evaluation

The objectives of the Terminal Evaluation are as follows:

- 1) To review the whole progress of the Project and evaluate the achievement as of the time of the Terminal Evaluation in accordance with the five evaluation criteria ('*Relevance*', '*Effectiveness*', '*Efficiency*', '*Impact*' and '*Sustainability*') on the basis of the 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 performance;
- 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 Terminal Evaluation Report.

### 1.3 Terminal Evaluation Team

The evaluation work of the Project was performed by three (3) JICA members in consultation with

authorities concerned in the Lao PDR. The members of the Terminal Evaluation Team (hereinafter referred to as “*the Team*”) were indicated below.

Simultaneously with the JICA’s evaluation work, the Japan Agency for Medical Research and Development (hereinafter referred to as “*AMED*”)<sup>1</sup>, supporting research activities conducted in Japan under the framework of SATREPS, dispatched one (1) officer and participated in the field survey in the Lao PDR to conduct their final 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 | 14/Oct/2018 – 20/OCT/2018 |
| Ms. Yukari MAEDA | Cooperation Planning | Staff, Health Team 4, Health Group 2, Human Development Department, JICA                | 14/Oct/2018 – 20/OCT/2018 |
| Dr. Yoichi INOUE | Evaluation Analysis  | Senior Consultant, Consulting Division, Japan Development Service Co., Ltd.             | 2/Oct/2018 – 20/OCT/2018  |

<AMED Mission Member >

| Name              | Designation             | Title and Affiliation  | Duration of Survey        |
|-------------------|-------------------------|--|---------------------------|
| Mr. Katsumi ISHII | Planning and Evaluation | Deputy Manager, Division of International Collaboration, Department of International Affairs, AMED | 14/Oct/2018 – 20/OCT/2018 |

The on-site evaluation work was conducted from the 2<sup>nd</sup> to the 20<sup>th</sup> of October 2018. 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 1<sup>st</sup> of May 2014 to the 30<sup>th</sup> of April 2019.
- 2) : The administration system of the Project is as follows:
  - Project Director: Director of the CMPE, MOH;
  - Project Manager: Director General of IPL; and
  - Chief Advisor: Director/Professor of the Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, National Center for the Global Health and Medicine (hereinafter referred to as “*NCGM*”)
- 3) Project Implementers (research institutes) of the Project are indicated as follows:
 

The Lao Side: the MOH, the CMPE, the IPL (the leading organization of the Laotian side), the Lao Tropical and Public Health Institute (Lao TPHI) and the National Center for Laboratory and Epidemiology (NCLE); and

<sup>1</sup> 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.



The Japanese Side: NCGM (the leading organization of the Japanese side), the University of Tokyo (UT), University of the Ryukyus (UR), 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. 6 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 1<sup>st</sup> Joint Coordinating Committee (hereinafter referred to as “JCC”) held on the 25<sup>th</sup> 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         | <p><u>Output 1</u><br/>More convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini are developed and utilized.</p> <p><u>Output 2</u><br/>Temporal and spatial epidemiological situations of pathogens and vectors of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini is monitored.</p> <p><u>Output 3</u><br/>Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed.</p> <p><u>Output 4</u><br/>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.</p> <p><u>Output 5</u><br/>Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened.</p>  |
| Activities      | <p><u>Activities under Output 1</u></p> <p>1-1. To establish the research environment of the IPL.</p> <p>1-2-1. To improve the procedure for collecting samples of patients (Plasmodium from blood and eggs from feces).</p> <p>1-2-2. To separate the parasites and extract the DNAs from samples of 1-2-1.</p> <p>1-3-1. To collect snails and fish (intermediate hosts) which are responsible for transmitting Schistosomiasis and Opisthorchiasis.</p> <p>1-3-2. To separate parasites and extract DNAs from snails and fish (intermediate hosts), which are responsible for transmitting Schistosomiasis and Opisthorchiasis.</p> <p>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.</p> <p>1-5. To report the developed technology in conferences, papers and patents.</p> <p><u>Activities under Output 2</u></p> <p>2-1. To collect and analyze the existing data of the MOH (on malaria, Schistosomiasis</p> |

|  |   |
|--|---|
|  | <p>mekongi and <i>Opisthorchiasis viverrini</i>).</p> <p>2-2. To evaluate the data collection system in each province and district in target areas.</p> <p>2-3-1. To conduct population genetic analyses of collected parasites by utilizing molecular phylogenetic analyses.</p> <p>2-3-2. To temporally construct eBURST diagram<sup>2</sup> using microsatellite markers.</p> <p>2-3-3. To analyze the change of population structure of the parasite genome by cluster analysis<sup>3</sup>.</p> <p>2-4-1. To elucidate the factors of deciding and expanding epidemics molecular epidemiologically using the obtained scientific evidences, and to report outcomes.</p> <p>2-4-2. To conduct genetic epidemiological survey of human <i>Plasmodium knowlesi</i> infection which are emerging in Laos.</p> <p>2-4-3. To apply Dojindo's kit for analyzing G6PD deficiency in endemic population.</p> <p><u>Activities under Output 33</u></p> <p>3-1. To analyze the mutation of the chloroquine resistant gene (<i>pfcr1</i>), the artemisinin resistant gene (K13) and amino acids and their adjacent microsatellite markers flanking the gene.</p> <p>3-2. To analyze the reported multidrug resistant gene mutations, and to elucidate the specific distribution of the mutation in the Lao PDR.</p> <p>3-3. To search the genetic marker and to elucidate its function for clarifying the mechanism of artemisinin resistance.</p> <p><u>Activities under Output 4</u></p> <p>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.</p> <p>4-2. To advise appropriate action and treatment based on the above diagnostic methods.</p> <p>4-3. To consider social approach for disease prevention, and to suggest health education for people.</p> <p><u>Activities under Output 5</u></p> <p>5-1. To provide guidance and collaborate with the researchers in the IPL according to the collaborative research plan.</p> <p>5-2. To invite Lao researchers to NCGM, and to conduct collaborative researches.</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>5-5. To hold the workshop in the Laos National Health Research Forum (LNHRF) to present the outputs of research activities.</p> |
|--|---|

<sup>2</sup> 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.

<sup>3</sup> 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 TERMINAL EVALUATION

### 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 Evaluation

The Terminal Evaluation 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 Terminal Evaluation Report.

### 2.3 Five Evaluation Criteria

Description of the five evaluation criteria that were applied in the analysis for the Terminal Evaluation 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 Terminal Evaluation. |
| 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 Terminal Evaluation.<br>PDM          |
| 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 Terminal Evaluation.                    |

|                |   |
|----------------|---|
| 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 Terminal Evaluation.   |
| 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 Terminal Evaluation. |

**2.4 Limitation of the measurement of achievement levels of the Outputs and the Project Purpose on the basis of PDM version 1**

Measurements of achievement of the Outputs and the Project Purpose shall be conducted in accordance with the latest PDM, in accordance with the JICA guidelines described above. However, during the Mid-term Review, the Japanese review mission confirmed that the PDM version 1 did not accurately represent the scope of the Project.

Specifically, the three diseases covered by the Project are malaria plasmodium, *Schistosoma mekongi*, and *Opisthorchis viverrini*, but each has a different scope (what, how and how much to do) for the research. Consequently, while the Output need to be organized in accordance with the target pathogen, in PDM version 1, the scope of all three pathogens has often been identified as discrepancies between actual implementation and the scope of the researches prescribed in the PDM. For example, the Project is supposed to develop PCR- and LAMP-based gene detection methods for each of the three pathogens studied (Output 1), but the PDM version 1 prescribes that all of them are supposed to be introduced into local field stations (Output 4). Considering the epidemiological characteristics of the said diseases and the current status and the practical operation of laboratories in the Lao PDR, only the LAMP-based method of plasmodium gene detection can be applied to province-level field stations. In another words, PCR-based genetic detection methods for malaria plasmodium, *Schistosoma mekongi*, and *Opisthorchis viverrini*, and LAMP-based methods for *Schistosoma mekongi* and *Opisthorchis viverrini* are not applicable to local field stations. In addition, some of the OVIs for the Outputs and the Project Purposes were identified during the Mid-term Review as not being used as scales to measure the achievement level adequately.

Based on the results of these reviews, the Mid-term Review Team recommended relevant organizations such as the Project and JICA to perform revisions of the PDM version 1 in the Mid-term Review Report. In response, the Project and other relevant organizations had commenced procedures to revise the PDM, but for a variety of reasons, this was not realized. Since the scope of the project's collaborative research activities itself has a consensus among researchers, the scope of the project's collaborative research activities does not pose a major obstacle to the implementation of research activities even if PDMs have not been revised. For this reason, it has been decided to conduct evaluation work be performed based on PDM version 1 even in the Terminal Evaluation.

Therefore, as in the Mid-term Review, the Team decided to evaluate the achievement level of the Project, with referring to the research scope and indicators for each pathogen specified in the PDM, on the basis of the perception that “*whether the Project achieved the intended research outcomes as well as ideal contribution to the infectious disease control initiative in the Lao PDR* in the Terminal Evaluation.

## 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 September 2018. See Annex 5 for more information.

| Components                              | Inputs   |
|---|--|
| Dispatch of Japanese Experts            | Long-term Experts: a total of 4 Experts (1 for parasitology research and a total of 3 Project Coordinators), a total of 101 M/M (Man/Month)<br>Short-term Experts: a total of 73 Experts, 15 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 $\approx$ USD 642,777) <sup>4</sup>   |
| Counterpart Researchers' visit to Japan | Total number: a total of 9 persons<br>Content: Sharing the research progress and outcomes, discussion on the research plan of operation and so on. (a total of 61 days)  |
| Training in Japan                       | Total number: 5 persons<br>Content:<br>– Training of Malaria Diagnosis, Drug Susceptibility Test and Genetic Analysis in Japan (4 persons at Department of Tropical Medicine and Malaria Research Institute, NCGM for 1 month)<br>Epidemiological study of malaria in Lao PDR (1 person at UR for 3 years) |
| Local costs                             | Overseas activities costs: JPY 81,336,000 (approx. USD 732,433) <sup>5</sup><br>– JFY2014: JPY 8,779,000<br>– JFY2015: JPY 19,644,000<br>– JFY2016: JPY 18,813,000<br>– JFY2017: JPY 18,108,000<br>– JFY2018: JPY 15,992,000 (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<br>1. Nine (9) from the MOH;<br>2. Eight (8) from IPL;<br>3. Two (2) from CMPE;<br>4. Two (2) from the Lao TPHI; and<br>5. One (1) from the NCLE.  |
| 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.<br>2. Laboratory space in IPL area.<br>3. Existing research instruments, equipment and/or devices in IPL and provincial CMPE<br>4. Available data, information and/or specimens related to the Project |
| Local costs                           | Utilities for the project office and total amount of IPL payment other than JICA's share of cost sharing, equipment maintenance management etc.<br>USD 176,400 (approx. LAK 1,472,860,421 $\approx$ JPY 19,589,044) <sup>6</sup>   |

<sup>4</sup> JICA Conversion rates in November 2016 was used for currency conversion.

<sup>5</sup> JICA Conversion rates in August 2018 was used for currency conversion.

<sup>6</sup> JICA Conversion rates in August 2018 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<br>More convenient and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini <sup>7</sup> are developed and utilized. |  |
|---|--|
| Activities  | Performances   |
| 1-1. IP To establish the research environment of the IPL.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.</li> <li>● 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.</li> <li>● 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.</li> <li>● –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.</li> <li>● 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.</li> <li>● 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.</li> <li>● –As an issue observed at the time of the Mid-term Review, the rain leaks occurred at the Lao-Japan Parasitology Laboratory and other laboratories where the project experiments were supposed to be done. From May to June 2016, the repair work on the rooftop of the IPL building was conducted, and the Project bore approximately half of its costs in accordance with the occupancy rate of the whole laboratory space of the IPL.</li> </ul> |
| 1-2-1. To improve the procedure for collecting samples of patients (Plasmodium from blood and eggs from feces).   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● From June 2014 to September 2018, a total of 36 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, community residents, canines and livestock such as cattle and water buffalos). Moreover, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, intermediate host organisms such as snails and fishes were also collected. Also, malaria vector mosquitoes were collected and analyzed in a joint effort with the IPL Medical Entomology &amp; Biology of Disease Vectors Laboratory (Lao-French Joint Laboratory).</li> <li>● 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. In addition, from November 2017, the Project also introduced the method for collecting blood samples of suspected malaria patients from a total of 8 health facilities, including provincial hospitals, district hospitals and health centers in Ponsari province of the Northern</li> </ul>   |

<sup>7</sup> Life cycles of malaria plasmodia, *Schistosoma mekongi* and *Opisthorchis viverrini* are explained in the Annex 6.

|   |  |
|---|--|
|   | <p>Province.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 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 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.</li> <li>• As of September 2018, blood samples had been obtained from 39,176 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.</li> <li>• As of September 2018, feces and blood samples had been obtained from a total of 3,920 and 2,677 community residents, respectively, in districts with endemic Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, <i>Champasak</i> (south), and <i>Khammouane</i> (center) and <i>Champasak</i>, respectively. In addition, the prevalence of Schistosomiasis mekongi in animals was investigated three (3) times in 2018 in <i>Champasak</i> Province at the request of the WHO. A total of 707 animals (buffaloes, cattle, swine, canines, goats) were subject to blood sample collection in this survey, and 703 of which were collected for fecal samples as well.</li> <li>• 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. Thereafter, the Project investigated the existence of persons with Schistosomiasis mekongi positive antibodies by using ELISA method and clarify the situation regarding endemicity. The Project performed the same investigation from May to August 2017. These schistosomiasis investigations were 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 the Lao PDR.</li> </ul> |
| <p>1-2-2. To separate the parasites and extract the DNAs from samples of 1-2-1.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Thirty-six thousand, five hundred and sixty-four (36,564) out of the 39,176 samples that had been obtained from suspected malaria patients in the field investigations and community residents in endemic areas by September 2018 were subjected to DNA sampling at the IPL and the NCGM. It is scheduled to carry out DNA extraction while adding more samples until the due date of the Project. 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.</li> <li>• Concerning 1,230 feces samples that were obtained in the investigation of Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini in <i>Champasak</i> 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 TMDU, and this work had been completed by the time of the Mid-term Review. Moreover, the TMDU is also investigating the conditions for DNA extraction from the feces samples (see Activity 1-4).</li> </ul>  |
| <p>1-3-1. To collect snails and fish (intermediate hosts) which are responsible for transmitting Schistosomiasis and Opisthorchiasis.</p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• The Project is performing sampling activities in every April from 2015 on the snails (<i>N. aperta</i>) responsible for transmitting <i>Schistosoma mekongi</i> as the first intermediate host in <i>Khong</i> District, <i>Champasak</i> Province, and the number of the snails collected are as follows: 1,975 in 2015; 3,115 in 2016; 5,500 in 2017; and 5,000 in 2018.</li> <li>• There are three types of <i>N. aperta</i>: <math>\alpha</math>, <math>\beta</math> and <math>\gamma</math>; 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 <i>N. aperta</i> comprised only the <math>\gamma</math> strain.</li> <li>• At the time of the Terminal Evaluation, no <i>Opisthorchis viverrini</i>-transmitting snails (<i>Bithynia siamensis</i>) had been sampled; however, from September 2018 onwards, it is intended to conduct sampling in <i>Khammouan</i> Province or <i>Champasak</i> Province, followed by the observation for evidence of infections under microscope, the extraction of DNA and the identification of strains of <i>B. siamensis</i>. These analyses work is anticipated to complete by April 2018.</li> <li>• Ten (10) fishes responsible for transmitting <i>O. viverrini</i> as the secondary intermediate host were purchased at a local market in <i>Nhonmalath</i> District.</li> </ul>    |

|   |  |
|---|--|
|   | <p>Khammouan Province in June 2016, and <i>Opisthorchis viverrini</i>-like metacercaria (encysted larva) were sampled from the scales of 5 of these. The Project extracted DNA from the metacercaria and subjected it to the LAMP-based method, resulted in negative for <i>O. viverrini</i>, that is to say, it was not the metacercaria of <i>O. viverrini</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● In April and June 2017, the Project collected 96 metacercaria from the muscles of 75 freshwater fish purchased in the market in <i>Nhommalath</i> District, <i>Khammouan</i> Province. The Project tested it with the LAMP-based detection method, and only 4 of which were revealed to be <i>O. viverrini</i>. Eventually, other 42 were identified as <i>Haplorchis taichui</i>; however, remaining 28 metacercaria were parasites that were neither <i>O. viverrini</i> nor <i>H. taichui</i>, and the species could not be identified.</li> <li>● In addition to <i>H. taichui</i>, several other parasites (trematodes) that excrete eggs similar to <i>O. viverrini</i> have been reported in endemic areas of <i>Opisthorchiasis viverrini</i>, which are collectively referred to as "minute intestinal flukes". "minute intestinal flukes" is said to be a relatively benign parasitic infection and not to cause cholangiocarcinoma, which can be caused by <i>Opisthorchiasis viverrini</i>. However, there are many unclear points to be studied between "minute intestinal flukes" infection and disease state.</li> </ul>   |
| <p>1-3-2. To separate parasites and extract DNAs from snails and fish (intermediate hosts), which are responsible for transmitting Schistosomiasis and Opisthorchiasis.</p>     | <p>&lt;Concerning Schistosomiasis mekongi&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Under the initiative of the TMDU, a method for extracting <i>S. mekongi</i> 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 <i>S. mekongi</i> 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 <i>S. mekongi</i> from the transmitting snails in light of the contents of the research.</li> </ul> <p>&lt;Concerning Opisthorchiasis viverrini&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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 <i>O. viverrini</i> from its metacercaria that were sampled from the transmitting fish scales indicated in Activity 1-3-1 in June 2016. Moreover, the Project has established a procedure of the identification of metacercaria species by extracting DNA from muscles of fishes followed by DNA detection using the LAMP-based method.</li> <li>● Moreover, investigation based on a social research approach (positive deviance) to addressing <i>Opisthorchiasis viverrini</i> 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 <i>O. viverrini</i> transmitting snails (first intermediate hosts) (<i>B. siamensis</i>) and DNA extraction after the Terminal Evaluation. Species identification by DNA diagnosis of metacercaria collected from snails will be carried out in at least one endemic area for <i>Opisthorchiasis viverrini</i> to clarify the prevalence of <i>O. viverrini</i> in snails within the project period.</li> </ul> |
| <p>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.</p> | <p>&lt;Concerning malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Concerning malaria, the NCGM designed the primer targeting the mitochondrial genome <i>cox1</i> gene, which can effectively identify the species of malaria, and determined the reaction conditions of PCR.</li> <li>● Concerning the LAMP method for detecting malaria DNA, the Loopamp™ MALARIA Pan/Pf Detection Kit (including DNA extraction kit and detection instruments) developed by <i>EIKEN CHEMICAL CO., LTD.</i> was introduced to the CMPE and provincial health offices in <i>Luang Prabang</i>, <i>Savannakhet</i>, and <i>Champasak</i> in 2016. The Project conducted technical follow-up activities to their three prefectural health offices in 2017 and 2018. Specifically, the usage situation and handling techniques were checked, and the troubleshooting was carried out. If there were any problems. For instance, when LAMP-based malaria gene detection was performed, cases that all test results including negative controls were all positive were identified in all the 3 provinces. Experts from <i>EIKEN CHEMICAL CO., LTD</i> and IPL staff visited the site and checked them to identify problems with the procedures and handling techniques of the local staff.</li> </ul>  |



|   |  |
|---|--|
|   | <p>Instructions for countermeasures and precautions were given to them; consequently, the problems were all resolved.</p> <p>&lt;Concerning Schistosomiasis mekongi&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Concerning Schistosomiasis mekongi, the TMDU established the conditions for extracting DNA from feces samples, designed the LAMP primer targeting the mitochondria genome <i>cox1</i> gene, and established the reaction conditions of LAMP, and in doing so it established the method for detecting the DNA of <i>S. mekongi</i>. 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.</li> </ul> <p>&lt;Concerning Opisthorchiasis viverrini&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Concerning Opisthorchiasis viverrini, the TMDU examined the conditions for extracting DNA from feces samples, designed the LAMP primer set targeting <i>cox1</i> 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 was considered that the DNA extraction conditions or the LAMP primer sequence were inappropriate at the time of the Mid-term Review. Also, it was also suggested 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, therefore, detailed examination based on these causes indicated that the positive rate of <i>O. viverrini</i> was likely to have been overestimated by microscopic diagnosis as described in activity 1-3-1, and that the gene detection method for <i>O. viverrini</i> by the LAMP method is likely to have produced the correct results.</li> </ul> |
| 1-5. To report the developed technology in conferences, papers and patents. | <ul style="list-style-type: none"> <li>Concerning the <i>S. mekongi</i> and <i>O. viverrini</i> 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.</li> <li>The Project published a scientific article on these results of the first survey carried out in <i>Nhommalath</i> District, <i>Khammouan</i> Province in an international journal<sup>8</sup>.</li> </ul>   |

| 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).                            | <p>&lt;Concerning malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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. In addition, the access right to the District Health Information System 2 (DHIS2), browser-based applications, was granted to the JICA long-term expert by the Lao Department of Health to monitor daily malaria outbreaks as part of the study. Moreover, the Malaria Countermeasures Meeting held at the WHO Office of Lao PDR every month gathers information on the number of malaria cases from DHIS2 and discusses plans for countermeasures and so on. In November 2017, based on the monitoring using DHIS2, a malaria outbreak in <i>Nong</i> District, <i>Savannakhet</i> Province was detected by CMPE and WHO, and a response was made for early containment.</li> <li>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</li> </ul> |

<sup>8</sup> Araki et al., Mothers' Opisthorchis viverrini infection status and raw fish dish consumption in Lao People's Democratic Republic: determinants of child infection status. Trop Med Health, 2018, 46: 29

|   |   |
|---|---|
|   | <p>17%, and in 2015 Falciparum malaria accounted for 40%, Vivax malaria 58% and the mixed infection rate was 2%.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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 ratio of Vivax malaria is actually increasing.</li> </ul> <p>&lt;Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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 Lao TPHI is reliable. The Lao TPHI, together with Japanese research agencies like 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.</li> <li>● 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 by praziquantel at the end of the year, and joint investigation work have been carried out in 2017 and 2018 based on the monitoring methods established on the basis of the technical advice given at the above conference, and the Project had participated these investigations as a member of the IPL. In these investigations the Project was in charge of filter blood sampling and testing them with the ELISA method. IPL is a member for the elimination of Schistosomiasis mekongi, and the IPL parasitology laboratory is supposed to continue testing service by ELISA after completion of the Project. Even following the completion of the Project, the IPL Parasitology Laboratory is expected to be maintained through collaborative research between NCGM and Japanese private enterprises in the Lao PDR.</li> </ul> |
| <p>2-2. To evaluate the data collection system in each province and district in target areas.</p> | <p>&lt;Concerning malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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. Health information reporting rates have improved as the MOH and NGOs involved in malaria control have promoted the use of DHIS2 as well as provided training to the officials (provincial and district health departments) in endemic areas. However, there are some health facilities with delays in monthly reporting; therefore, further improvement is desired. Since the promotion of DHIS2 use and the improvement of the data reliability are excluded from the scope of the Project, efforts to improve them have not been implemented by the Project.</li> </ul> <p>&lt;Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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 Lao TPHI. Since 2016, the MOH has</li> </ul>   |

|   |  |
|---|--|
|   | <p>been conducting regular epidemic surveys for Schistosomiasis mekongi with the support of the WHO. Specifically, the infection rate of 200 inhabitants (100 children and 100 adults) is surveyed annually in the 7 selected sentinel site (villages). In addition, 10 villages, randomly selected each year, are surveyed (Spot check site villages) by a similar method. The Project also contributed to the survey, specifically, by performing ELISA-based antibody detection tests to estimate the prevalence of Schistosoma mekongi in endemic populations and by spot check sites (two villages) surveys (feces testing by the Kato-Katz method and antibody detection by ELISA method).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• The target sites for project research were selected based on data of the Lao TPHI</li> </ul>   |
| <p>2-3-1. To conduct population genetic analysis of collected parasites by utilizing molecular phylogenetic analyses.</p>   | <p>&lt;The Intention or purpose of Activity 2-3&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 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.</li> <li>• 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.</li> </ul>  |
| <p>2-3-2. To temporally construct eBURST diagram using microsatellite markers.</p>  |  |
| <p>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.</p> | <p>&lt;Concerning malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 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 Terminal Evaluation, work mainly concerns investigating endemicity and trends of <i>Falciparum malaria</i> and <i>Vivax malaria</i>, the situation regarding asymptomatic malaria cases, the endemic of drug-resistance malaria, etc. As a result, the Project revealed that there are many asymptomatic infections in the malaria endemic area, that there are many infections of <i>Vivax malaria</i>, and that malaria infections of adult males are many. The results of these surveys and research have already been published in international scientific journals, and some papers have been submitted to journals for peer reviewing at the time of the Terminal Evaluation</li> <li>• The Project also conducted an analysis using microsatellite DNA markers on <i>P. falciparum</i> populations collected in <i>Sepon</i> District, <i>Savannakhet</i> Province in 2010 and 2013 to investigate whether there were genetic differences in the protozoal populations according to the year of collection, but no significant differences were observed. Population genetic analysis using microsatellite DNA markers is currently underway for malaria protozoa specimens obtained during a malaria outbreak in <i>Nong</i> District, <i>Savannakhet</i> Province in 2017. The results of this analysis will be compiled as a scientific paper and submitted to an international journal by the end of the project period.</li> <li>• On the other hand, molecular phylogenetic analysis of existing malaria patient specimens revealed the first case of human infection with <i>Plasmodium knowlesi</i> in the Lao PDR, and the results were published in an international academic journal<sup>9</sup>.</li> <li>• Furthermore, the Project carried out a population genetic analysis using chloroquine resistance genes (<i>pfcr1</i>) and their adjacent microsatellite DNA as molecular markers in <i>P. falciparum</i> in Greater Subregion including the Lao PDR, and confirmed chloroquine resistance gene mutations in 87% of the specimens. The Project also compiled the results as an academic paper and published in an international journal<sup>10</sup>.</li> </ul> <p>&lt;Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Concerning Schistosomiasis mekongi, very few positive samples were obtained as of the time of the Terminal Evaluation. So far, out of 2,983 feces samples investigated in the Project, only 25 and 10 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 impossible to</li> </ul> |

<sup>9</sup> Iwagami et al., First case of human infection with *Plasmodium knowlesi* in Laos. PLOS Negl Trop Dis, 2018, 12:e0006244

<sup>10</sup> Iwagami et al., *Pfcr1* genotypes and related microsatellite DNA polymorphisms on *Plasmodium falciparum* differed among populations in the Greater Mekong Subregion. Parasitol Int, 2018.

|   |   |
|---|---|
|   | <p>implement population genetic analysis of <i>Schistosomiasis mekongi</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Concerning <i>Opisthorchiasis viverrini</i>, in consideration of the LAMP-based DNA detection results, it is suggested that the prevalence of <i>Opisthorchiasis viverrini</i> by microscopic diagnosis can be overestimated. As aforementioned, the true prevalence of <i>O. viverrini</i> has not been clarified yet, the Project has not reached at the stage of population genetic analysis at this time.</li> </ul>   |
| <p>2-4-1. To elucidate the factors of deciding and expanding epidemics molecular epidemiologically using the obtained scientific evidences, and to report outcomes.</p> | <p>&lt;Concerning malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>As a result of the malaria investigation and research conducted in the Project, it was found that in particular there are more <i>Plasmodium vivax</i> 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: <ul style="list-style-type: none"> <li>On investigating 778 residents of Savannakhet 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;</li> <li>In May 2015, as a result of surveying 719 residents in Attapeu Province, whereas 3 persons and 5 persons were diagnosed as positive in microscopic examination and RDT, respectively, the number was 47 by the PCR-based method (4 persons positive for <i>Falciparum malaria</i>, 41 positives for <i>Vivax malaria</i> and 2 positive for both <i>Falciparum</i> and <i>Vivax</i>). Interestingly, Only one of these 47 patients had a fever of 37.5°C or higher, and only 31.9% (15/47) had any symptoms. The remaining 68.1% (32/47) were asymptomatic carriers, and 66.0% (31/47) were adult males;</li> <li>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 <i>Falciparum malaria</i>, 54 positive for <i>Vivax malaria</i>, 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</li> <li>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 <i>Falciparum</i>-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.</li> </ul> </li> <li>These research findings are constantly shared with the Lao MOH. Moreover, the findings obtained from the 2013 investigation in Savannakhet Province<sup>11</sup> and 2015 investigation in Attapeu Province<sup>12</sup> were published in international journal in 2016 and 2017, respectively.</li> </ul> <p>&lt;Concerning <i>Schistosomiasis mekongi</i> and <i>Opisthorchiasis viverrini</i>&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Concerning <i>Schistosomiasis mekongi</i>, six (6) habitats of <i>Schistosoma mekongi</i>-transmitting snails were identified in the investigation implemented in Khong District, Champasak Province in April 2016, and snails infected with <i>Schistosoma mekongi</i> 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. Further, in the field survey at the same area in April</li> </ul> |

<sup>11</sup> Pongvongsa T. et al. Household clustering of asymptomatic malaria infections in Xepon district, Savannakhet province. *Lao PDR. Malar J.* 2016;15:508.

<sup>12</sup> Iwagami M. et al., The detection of cryptic *Plasmodium* infection among villagers in Attapeu province. *Lao PDR. PLoS Negl Trop Dis.* 2017 11(12): e0006148.

|   |  |
|---|--|
|   | <p>2017, the Project identified six (6) habitats of the snail, and confirmed the infected snails in 2 of these.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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 <i>Praziquantel</i> once a year, there is room to discuss the need for examining spreading factors.</li> <li>● 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".</li> </ul>   |
| <p>2-4-2. To conduct genetic epidemiological survey of human <i>Plasmodium knowlesi</i> infection which are emerging in Laos.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>● The generally-recognized human infectious malaria plasmodia comprises 4 types: <i>P. falciparum</i>, <i>P. vivax</i>, <i>P. malariae</i>, and <i>P. ovale</i>; however, in recent years in Southeast Asia, there have been reported cases of human infections, sometimes leading to fatalities, of <i>P. knowlesi</i> – a species that usually only infects long-tailed macaques. In particular, since there are increasing opportunities for coming into contact with <i>P. knowlesi</i> due to deforestation, ecotourism and so on in recent years, there is a strong need to investigate cases of human infection of <i>P. knowlesi</i> in the Lao PDR.</li> <li>● Utilizing the primer for amplifying the DNA of <i>P. knowlesi</i> designed by the NCGM in the past, screening by the PCR-based detection method was performed on 299 samples collected in Savannakhet Province in 2014; however, no positive samples were detected. Following the Mid-term Review, a total of 2,698 samples collected from health facilities in five southern provinces from 2015 to 2016 were screened by PCR-based DNA detection method, and one sample from <i>Attapeu</i> Province was found to be positive for <i>P. knowlesi</i>. As a result of identifying the DNA base sequence of two gene regions and carrying out the molecular phylogenetic analysis in order for the concrete diagnosis, it was confirmed that <i>P. knowlesi</i> DNA was detected from the sample definitely. This is the first case of human infection with <i>P. knowlesi</i> in the Lao PDR. This result was reported to PLOS Neglected Tropical Diseases in 2018 as aforementioned. As a result of the rapid diagnostic test, this case was diagnosed as positive for Vivax malaria. <i>P. knowlesi</i> is genetically similar to <i>P. vivax</i>, and it is known that not only the results of rapid diagnostic tests but also PCR may be mistakenly diagnosed as Vivax malaria. Therefore, it is probable that among the cases diagnosed in the Lao PDR with Vivax malaria, there are actually mixed cases of <i>P. knowlesi</i> infection.</li> <li>● Apart from the Project, a previous malaria investigation implemented by Japanese researchers in Savannakhet Province has demonstrated a possibility of the human infection of <i>P. knowlesi</i>. As mentioned above, the Project also identified a case of human infection with <i>P. knowlesi</i> and indicated a risk of human infection with <i>P. knowlesi</i> in the Lao PDR. Human infections with <i>P. knowlesi</i> can be severe, and many deaths have been reported in Malaysia. Combination therapy with chloroquine or artemisinin has been still effective and drug resistance has not been reported as of now. Having said that, because <i>P. knowlesi</i> grow faster in erythrocytes (one cycle in 24 hours) than other human plasmodium, this research results of the Project warns that even if the diagnosis was Vivax malaria in a rapid diagnostic test, it is necessary to carry out the treatment with appropriate antimalarial drugs without fail.</li> </ul> |
| <p>2-4-3. To apply Dojindo's kit for analyzing G6PD deficiency in endemic population.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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 <i>Primaquine</i>, which is deemed effective for addressing hypnozoites. However, since there is a danger of an adverse event<sup>13</sup> (acute hemolytic anemia) being triggered when administering <i>Primaquine</i> to persons with G6PD deficiency, it is desirable to conduct a G6PD enzyme activity examination before <i>Primaquin</i> 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.</li> <li>● The Project also published a review article on G6PD deficiency in the Greater</li> </ul>  |

<sup>13</sup> Assuming the normal G6PD blood enzyme activity to be 100%, G6PD deficiency is defined as 60% or lower.

|  |  |
|--|--|
|  | <p>Mekong Region in 2017 in an international journal. This review article investigates and summarizes what G6PD deficiency symptoms were previously reported in the region. As a result, not only hemolytic anemia due to the oral administration of primaquine but also that due to the ingestion of beans, infection by typhoid, neonatal jaundice, or thalassemia were reported to be affected, and it became clear that the test for G6PD deficiency is an also important test for various factors besides the drug treatment of Vivax malaria.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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 “<i>moderate deficiency</i>”. 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.</li> <li>● Similar investigations were performed by the Project in <i>Savannakhet</i> Province in November 2016 and October 2017 as well as <i>Ponsari</i> Province, the northern part of the Lao PDR, in February 2017. The summary of these surveys is described below. <p>Blood samples from 2,043 inhabitants were tested using Dojindo's rapid test kits, of which 136 had less than 60% G6PD enzyme activity (regarded as G6PD deficiency). As a result of the G6PD genetic analysis of these 136 specimens, the <i>Viangchan</i>-type mutation was observed in 90 samples, the <i>Canton</i>-type mutation was observed in 3 samples, and the <i>Mahidol</i>-type mutation was observed in 2 samples. Given the proportion with the mutation in the G6PD gene was observed by prefecture, it was 6.1% in <i>Champasak</i> Province, 5.5% in <i>Savannakhet</i> Province, and 0.5% in <i>Poncelaly</i> Province. It became clear that the frequency of G6PD deficiency by the region was dependent on the difference of the ethnicity of the inhabits. For example, all <i>Viangchan</i>-type mutation were identified in <i>Savannakhet</i> and <i>Champasak</i> provinces, 44% of which were the Lao tribe. On the other hand, the <i>Canton</i>-type mutation was only observed from the <i>Lao Katang</i> and <i>Mangkong</i> tribes of <i>Savannakhet</i> Province, and the <i>Mahidol</i>-type mutation was only observed from the <i>Akha</i> tribe of <i>Phongsaly</i> Province. As its name implies, the <i>Viangchan</i>-type mutation is the first G6PD mutation reported in <i>Vientiane</i> and appears to be a common mutation in the Lao tribe, the majority of the Lao PDR. In the meantime, the Lao tribe was little in <i>Ponsari</i> Province in the north, and it became clear that frequency and tendency of the G6PD gene mutation differed from the region in which the Lao tribe was abounding. For these findings, the Project is preparing a manuscript of an academic article at the time of the Terminal Evaluation and is anticipated to be submitted to an international journal within the year of 2018.</p> <p>Currently, the oral primaquine as a radical treatment for Vivax malaria is described in the Malaria Treatment Guidelines in the Lao PDR. It is also clarified that it is necessary to investigate the G6PD enzyme activity using the rapid test kit of G6PD before the primaquine prescription. However, operational improvements are needed, because of the fact that the results of the rapid diagnostic test kit for G6PD may not be clearly appeared sometimes (problems with the rapid diagnostic test kit for G6PD) and the inability to perform the G6PD test and primaquine prescription at local health center level. Because many patients with malaria visit their nearest health centers and often do not visit distant district or provincial hospitals, some patients relapse without definitive treatment for Vivax malaria. The number of relapsed cases has not been counted on the health information system, so the actual situation is unknown.</p> </li> </ul> |
|--|--|



|   |              |
|---|--------------|
| Output 3  |              |
| Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed. |              |
| Activities  | Performances |



|  |  |
|--|--|
| <p>3-1. To analyze the mutation of the chloroquine resistant gene (<i>pfprt</i>), the artemisinin resistant gene (<i>K13</i>) and amino acids and their adjacent microsatellite markers flanking the gene.</p> | <p>&lt;Concerning chloroquine-resistant malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● As a result of investigating mutations and arrangement of the gene (<i>pfprt</i>) responsible for chloroquine resistance in the NCGM, genetic mutation on the <i>pfprt</i> gene was observed in 26 out of 33 (79%) of malaria plasmodia collected in <i>Savannakhét</i> Province in 2010. In contrast, the said mutation was observed in 17 out of 48 (35%) of malaria plasmodia collected in <i>Savannakhét</i> Province in 2013. Since chloroquine resistant <i>Falciparum</i> malaria is common in the Mekong area, the use of chloroquine for the treatment of <i>Falciparum</i> 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) <i>Falciparum</i> malaria plasmodia had increased, however, there are still not enough samples to draw any definite conclusions. It is supposed to widen the investigation area and increase the number of samples thereafter; however, since the Project had sifted the effort to investigate the research on artemisinin resistance, the analyses on the chloroquine sensitivity of <i>Falciparum</i> malaria has not progressed as of the time of the Terminal Evaluation.</li> <li>● Concerning heterozygosity (genetic diversity) of the microsatellite markers flanking the chloroquine resistant gene of <i>pfprt</i>, the plasmodium populations that were collected in <i>Savannakhét</i> 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. The Project has published an article using a part of abovementioned research findings in an international journal in 2018<sup>14</sup>.</li> </ul> <p>&lt;Concerning artemisinin-resistant malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● As a result of investigating mutations and arrangement of the <i>K13</i> gene responsible for artemisinin resistance in the NCGM, no genetic mutation was observed in the 33 <i>Falciparum</i> malaria plasmodia that were collected in <i>Savannakhét</i> Province in 2010. However, mutation<sup>15</sup> was observed in 3 out of the 47 (6%)<sup>16</sup> malaria plasmodia collected in <i>Savannakhét</i> Province in 2013. These results were presented in the <i>New England Journal of Medicine</i><sup>17</sup> as achievements of the joint research of the Institut Pasteur International Network.</li> <li>● DNA analysis of 2,409 malaria patient blood samples collected at health facilities in five southern provinces from October 2015 to April 2016 was carried out in NCGM, and <i>P. falciparum</i> was observed in 1,151 samples. Mutations in the artemisinin resistance-responsible gene (<i>K13</i>) were examined, and 56% of which were found to be resistant mutations. And, it became clear for the first time that the frequency of the mutation was the highest in the southernmost part and lowers as it rose northward, when the proportion of the mutation on <i>K13</i> was analyzed by the region. The frequency of mutation was 73% in <i>Champasak</i> Prefecture, 69% in <i>Attapeu</i> Prefecture, 58% in <i>Saravan</i> Prefecture, 39% in <i>Sekon</i> Province, and 28% in <i>Savanaket</i> Prefecture. Next, by district, <i>Tapanton</i> District, <i>Savannaket</i> Province had the highest rate of 97%, followed by <i>Vape</i> District <i>Saravan</i> Province, which was the second highest rate of 91%. These two districts</li> </ul> |
|--|--|

<sup>14</sup> Iwagami et. al., *Pfprt* genotypes and related microsatellite DNA polymorphisms on *Plasmodium falciparum* differed among populations in the Greater Mekong Subregion. *Parasitol Int.* 2018 Dec;67(6):816-823.

<sup>15</sup> One (1) out of 3 artemisinin-resistant sample demonstrated the substitution of leucine with methionine on the 488<sup>th</sup> codon of the *K13* gene (L488M), whereas other 2 demonstrated the glutamine synonymous substitution coded by CAA or CAG.

<sup>16</sup> One (1) out of 3 artemisinin-resistant sample demonstrated the substitution of leucine with methionine on the 488<sup>th</sup> codon of the *K13* gene (L488M), whereas other 2 demonstrated the glutamine synonymous substitution coded by CAA or CAG.

<sup>17</sup> 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

|  |   |
|--|---|
|  | <p>were adjacent and represented areas where timber felling was actively done during the study period. A review of the project's research results and previous field studies revealed that forest activities, such as timber felling, are regarded as a risk factor for malaria infection in the Mekong region. The risk of malaria infection in the village is decreasing because drug infiltration mosquito nets are distributed free of charge with the assistance from Global Fund for fight against AIDS, Tuberculosis and Malaria in villages in malaria-endemic areas, whereas the persons working in the forest stays for a certain period of time (sometimes stay there overnight) without mosquito-prevention countermeasures such as mosquito nets, suggesting a high frequency of contact with malaria-carrying mosquitoes. The correlation between the active areas of timber felling and the high frequency of drug-resistant malaria may be influenced by the high rate of malaria infection and the use of inappropriate medications. It is presumed that the inappropriate drug can be explained as the administration of artemisinin alone, poor quality copy medicines and so on.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● In addition, 4 types of mutations on the <i>K13</i> gene (C580Y, P574L, R539T and Y493H) were observed in the above-mentioned surveys, with C580Y being the most frequent. This is the same mutation identified from <i>P. falciparum</i> in western Cambodia, where artemisinin resistance was first reported in the world.</li> <li>● In addition, the collection of blood samples from malaria-suspected cases was also initiated at health facilities in <i>Ponealy</i>, the northernmost province of the Lao PDR from November 2017. DNA analyses of 98 samples collected in November and December 2017 revealed that 3 samples of <i>P. falciparum</i>, 3 samples of <i>P. malariae</i>, and 2 samples of <i>P. vivax</i> were observed, and the remaining 90 samples were negative for malaria. The <i>K13</i> gene analysis of <i>P. falciparum</i> revealed that all three specimens were C580Y.</li> </ul>  |
| <p>3-2. To analyze the reported multidrug resistant gene mutations, and to elucidate the specific distribution of the mutation in the Lao PDR.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>● Based on the results of the Activity 3-1, the Project hypothesized that the <i>K13</i> gene mutation C580Y from Cambodia is spreading in the Lao PDR. Accordingly, the Project conducted an analysis of two gene regions (Pf K13_151 and Pf K13_159) near the <i>K13</i> gene to elucidate the geographic origin of this gene mutation. The analysis results suggested that artemisinin-resistant protozoa from Cambodia spread gradually from southern to northern parts of the Lao PDR as humans moved, reaching the northernmost <i>Ponsari</i> Province by the end of 2017.</li> <li>● These results suggest a risk that artemisinin-resistant malaria may spread from <i>Ponealy</i> province of the Lao PDR to <i>Yunnan</i> Province of China. Currently, the construction of railroads connecting Vientiane with <i>Kunming</i> of <i>Yunnan</i> Province, China has begun, and many Chinese workers are engaged in this construction in northern area of the Lao PDR. To prevent the spread of artemisinin-resistant malaria to <i>Yunnan</i> Province through Chinese workers, IPL visited the <i>Yunnan</i> Institute of Parasitic Diseases in <i>Pouar</i> City of <i>Yunnan</i> Province in March 2018, and held the first countermeasure meeting. The meeting was sponsored by the Institut Pasteur Shanghai and the Chinese Academy of Sciences jointly.</li> <li>● 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. NCGM is planning to support the IPL parasitology lab continuously even following the end of the Project. Though it is necessary to examine the scale of active surveillance of drug resistance gene mutation by the budget which can secure, sample collection will be carried out only in health facilities where the malaria patient is more abounding hereafter. In addition, it takes into consideration not only the investigation of the gene mutation but also the evaluation of the treatment outcomes by following-up after the treatment.</li> </ul> |
| <p>3-3. To search the genetic marker and to elucidate its function for clarifying the mechanism of artemisinin resistance.</p>                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>● In the Project, the novel marker gene for the mechanism elucidation of the artemisinin resistance was not searched, and the analysis of the diffusion mode in the Lao PDR was carried out by investigating the gene polymorphisms of the <i>K13</i> gene and its neighboring genes as molecular markers.</li> <li>● The reason of not searching for novel marker genes in the Project was attributed to the fact that the <i>K13</i> gene was recognized and widely used as an artemisinin resistance gene marker globally, and more detailed examination of the <i>K13</i> gene and its neighboring genes than searching for other new genetic markers appeared to be effective in estimating the epidemic spread of artemisinin resistance. And, it was considered that it was not appropriate to carry out the search of the new drug</li> </ul>  |



|  |  |
|--|--|
|  | resistance gene in the Project since large-scale and long-term basic research such as whole genome analysis of the field samples and drug sensitivity test using the culture system of <i>P. falciparum</i> is required. |
|--|--|

| Output 4<br>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. |   |
|---|---|
| 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.  | <p>&lt;Concerning malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.</li> <li>● In August 2016, the JICA long-term experts (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.</li> <li>● 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, 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 RDT, the samples from both provinces were found to be positive only in the LAMP-based method. Introduction of LAMP methods for malaria gene detection is intended to support countermeasures against malaria in the Lao PDR and to accumulate data to obtain the Prequalification from WHO. The Project aims to officially introduce the LAMP-based malaria gene detection method into the Lao PDR, but the MOH has argued that it is not possible to introduce a WHO-unapproved method for malaria diagnosis. With the cooperation of Eiken Chemical Co., Ltd., five additional LAMP detection devices are planned to be introduced into medical facilities in the endemic areas of the Lao PDR by the end of the project period. Even after the project is completed, the number of clinical cases of malaria diagnosis by LAMP method will be accumulated at the initiative of the NCGM and the IPL.</li> <li>● 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.</li> </ul> <p>In January 2017, the staff of Eiken Chemical Co., Ltd., the Chief Advisor of the Project (JICA Expert), JICA long-term expert, the Project Manager of the Project (the director of the IPL), and staff of the Parasitology Laboratory of the IPL visited the SMPE of the Luang Prabang PHO to confirm the operation status and conduct troubleshooting. The main troubles and response situations experienced so far are as described in the Activity 1-4. Another issue was the opinion that the SOP written in Lao language for 9 pages were too long to be read by local staff. Local staff requested only points to be assembled on a single page, but the Project found that it is not possible to omit some contents of the SOP to properly perform DNA detection by LAMP method. Although this is due to the fact that Lao language itself is difficult to read and write, it is applicable to all activities, and it is believed that the local laboratory personnel such as the staff of SMPE should be trained in decoding Lao language.</p> |

|   |  |
|---|--|
|   | <p>In March 2017, the staff of <i>Eiken Chemical Co., Ltd.</i> and the IPI. parasitology laboratory visited SMPEs of <i>Savannakhet</i> and <i>Champasak</i> PHOs to confirm the operational status and perform troubleshooting. Troubleshooting activities, likewise that was done in <i>Luang Prabang</i> were performed as well.</p> <p>In February 2018, the JICA long-term expert and the staff of the Lao TPHI visited the SMPE of <i>Savannakhet</i> PHO to confirm the operational status and perform troubleshooting. However, the SMPE has re-experienced the degradation of LAMP reagents by moisture as described in the Activity 1-4, resulting in recurrent troubles with all positive results, including negative controls. For this reason, the SMPE has not been performing the LAMP-based malaria DNA detection since January 2018. The Project checked the status of use by telephone as needed; nonetheless, although the Project was aware of this problem, any countermeasure was taken for it and it has not been resolved as of the time of the Terminal Evaluation due to various reasons such as temporal stagnation of LAMP reagents supply (expiry).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.</li> </ul> <p>&lt;Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini &gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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 <i>Champasak</i> Province. The LAMP-based DNA detection method for diagnosing malaria has been introduced to this province, and it is technically possible to introduce the detection method for diagnosing Schistosomiasis mekongi as well. The Project, nevertheless, decided not to introduce it to the SMPE of <i>Champasak</i> Province as well as the DHO of <i>Khong</i> District in consideration of its surroundings and situation eventually. Specifically, the LAMP reagents for diagnosing malaria are lyophilized and can be stored at room temperature. However, LAMP reagents for diagnosing Schistosomiasis mekongi require cryopreservation and reagent preparation that requires sensitive pipetting by lab staff. Given the infrastructure such as cold chains and freezers (including uninterruptible equipment) and technical capabilities of laboratory staff in the SPME of <i>Champasak</i> PHO and the <i>Khong</i> DHO, the Project concluded that the introduction of LAMP methods for diagnosing schistosomiasis in these facilities is not feasible as of the time of the Terminal Evaluation.</li> <li>● On the other hand, it was 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, examination of the LAMP reaction conditions and condition improvement of DNA extraction from fecal samples have been continued following the time of the Mid-term Review. Moreover, the Project the Project tested the metacercaria, extracted from the fish muscle and subject it to the LAMP-based DNA detection, resulted that <i>H. taichui</i>, which is too similar to distinguish from <i>O. viverrini</i> microscopically, was infected more frequently than <i>O. viverrini</i>. For this reason, it is strongly suggested that the test results from the LAMP-based DNA detection method is more likely to resent true status than that from microscopic examination by the Kato-Kats method.</li> <li>● 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.</li> </ul> |
| <p>4-2. To advise appropriate action and treatment based on the above diagnostic methods.</p> | <p>&lt;Concerning malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.</li> </ul>  |

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 (*Savannakhet* 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 have continuously been gathered for the evaluation of the clinical performance of the LAMP-based malaria DNA detection method. The Project has been continuing measures to acquire the prequalification of the said method by WHO. However, the Project has not gathered the expected number of testing cases; in particular, 24 cases in *Luang Prabang* province (all negative), 88 cases in *Savannakhet* Province (2 *Vivax* malaria and the rest 86 negative) and 2 cases in *Champasak* Province (all negative) as of September 2018. In case that provincial hospitals, district hospitals and/or health centers found the necessity to test the samples with more specific and sensitive method, i.e., negative for both microscopic diagnosis and RDT but with malaria-like symptom, they are supposed to send those samples to the SMPE of PHOs for LAMP-based DNA detection for malaria diagnosis; however, it is unclear how much samples are actually sent to the SMPE. Moreover, since these SMPE are located far from the villages with high malaria incidence, the small number samples were brought to the SMPE; this can also be considered to be a major factor in which genetic testing by the LAMP method was not carried out to the expected extent. From now onwards, five more LAMP detection devices are planned to be distributed in district hospitals with more patients in cooperation with Eiken Chemical Co., Ltd. NCGM and IPLs are also supposed to continue to work together to accumulate test cases even after the completion of the Project.

- 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 Terminal Evaluation 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.,

The "*Malaria Eradication Surveillance Guideline*" issued by the CMPE of the DCDC, the Ministry of Health in November 2017 states that the surveillance in provinces with low numbers of malaria patients and shifting from usual malaria control to the elimination phase, rather than the collection of routine malaria patient information, "*to detect Plasmodium infections using reliable microscopic examination, rapid diagnostic tests, or molecular diagnostic techniques*". That is to say, the result of the technical cooperation by the Project was reflected in the malaria countermeasures carried out by the Lao government, owing to the efforts that the Project has established reliable molecular diagnosis methods for malaria at the IPL and continued providing assistances to the organizations engaged in the malaria control such as the MON and WHO through the testing services using these methods, information sharing, technical advice, etc.

<Concerning Schistosomiasis mekongi >

- Concerning Schistosomiasis mekongi, the number of infected persons has recently been greatly reduced owing to the once-a-year implementation of mass extermination by *praziquantel*.
- 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. It was also estimated that the prevalence of *Schistosoma mekongi* infection in 5,500 snails collected in the April 2017 survey was at least 0.08% and that of 5,000 snails collected in the April 2018 survey was 0.03% or less. The prevalence has greatly been reduced

|   |   |
|---|---|
|   | <p>from the April 2016 results (0.26%); nevertheless, it was inferred that the prevalence of intermediate host snails in endemic areas may have decreased due to the reduction of the prevalence of in humans by countermeasures implemented by the MOH and other factors. Analyses using geographical data from satellutes conducted by the Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) suggest that in 2016, the Mekong River was at a higher water level during the dry season, and that the infection rates in snails might be correlated with water levels. At present, the Project is carrying out detailed statistical analysis in collaboration with JAXA, and the results of these analyses will be reported as academic papers by the end of the project period. Some of these research results will also be reported at the Lao National Health Research Forum, which was held in October 2018.</p> <p>&lt;Concerning Opisthorchiasis viverrini &gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● On the other hand, concerning Opisthorchiasis viverrini, due to the background of a raw fish-eating culture, there is a report of infection rates, on the basis of the Kato-Katz method of microscopic test, as high as 88% in <i>Nhommalath</i> District, <i>Khammouan</i> Province. Meanwhile, a survey for the infection rate of Opisthorchiasis viverrini in <i>Moumlapamok</i> District of <i>Champasak</i> Province demonstrated the different results as 77% by the Kato-Katz method and 47% by the LAMP method. It is difficult to compare the results directly because the study subjects are different in <i>Kamuan</i> and <i>Champasak</i> Provinces, but the true prevalence of <i>O. viverrini</i> infection in <i>Kamuan</i> Province is supposed to be lower than 88% at least. It can be inferred that the LAMP method developed by the Project has a certain sensitivity and specificity for the detection of <i>O. viverrini</i> DNA. However, due to the lack of comparators capable of presenting accurate results, the results of genetic testing by LAMP method cannot determine true infection rates. However, the prevalence of <i>O. viverrini</i> infection remains high, although the prevalence is estimated to be at least less than that of conventional microscopic examination. Therefore, not only mass deworming by <i>praziquantel</i> but also socio-scientific approaches to the culture and lifestyle of eating habit of raw fish (positive deviance, etc.), from a long-term perspective are desirable to be investigated as scientific researches.</li> <li>● 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.</li> </ul> |
| <p>4-3. To consider social approach for disease prevention, and to suggest health education for people.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.</li> </ul> <p>Current status concerning the social-scientific approach to persons with the project target diseases is described below.</p> <p>&lt;Concerning malaria&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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, the observation of the actual use of the LLINs in the community shows the improper use (e.g., a hole in the net or a lack of use in some family members) to a certain extent. Therefore, it is risky to evaluate malaria countermeasure solely by the distribution rate of the LLINs.</li> </ul> <p>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 (<math>p &lt; 0.05</math>). 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 (<math>p &lt; 0.05</math>), and the trend of infection was higher among persons engaged in forestry and agriculture who spend long hours outdoors in forests, etc. In addition to "adult male", the multivariate analysis using data from 5 southern provinces identified other risk factors for malaria infection as having had three or more previous malaria infection, farmers and military personnel. The Government of the Lao PDR has set a goal of the elimination of malaria by 2030, but to achieve this goal, it may also be effective to implement targeted countermeasures in populations at increased risk of infection.</p>  |

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.

With a joint effort of the Lao MOH, WHO and other related agencies, a novel approach to preventing infection among forest workers has commenced by setting up simple malaria testing facilities called "malaria posts" in forest areas. In parallel with this, under the initiative of the UR, the Project examined the effectiveness of snowball sampling as a means of gaining access to unregistered forest workers. The results showed that family members of malaria patients and their friends or neighbors were more likely to be infected with malaria. This indicates that someone in the same environment is at higher risk of acquiring malaria than someone else in the same environment. Based on this result, once a malaria patient is discovered, active testing of the patient's family members and friends will allow more effective detection and treatment of malaria patients including asymptomatic carriers. The Project presented this result at the Lao National Health Research Forum held in 2017.

<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 by praziquantel.

Following the Mid-term Review, The Project conducted surveys of the distribution of Schistosoma mekongi-infected shellfish in 2017 and 2018. These survey results were analyzed in combination with geographical data from satellites held by JAXA and that available free of charge to create a more accurate risk map. It is planned that the data will be shared with Champasak PHO and Khon DHO in the month ahead, and that the places where it is safe to use water will be presented to the inhabitants.

<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 on the basis of the Kato-Katz method. The results of a survey in Champasak Province using the LAMP-based *O. viverrini* DNA detection method, developed by the Project, revealed that a certain number of other trematode infections, such as *H. taichui*, which are similar in morphology to *O. viverrini*, were incorrectly diagnosed as Opisthorchiasis viverrini. Having said that, once-a-year implementation of mass extermination by praziquantel has been carried out in this district too; however, it was clearly shown that many residents become re-infected with fish-borne flukes 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 2015 that year, it was anticipated 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.

However, using the LAMP-based detection method, 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, the Project had developed the LAMP-based DNA detection method for *H. taichui*, which is observed very frequently in *O. viverrini*-like parasites (Trematoda) on the basis of the advises from Thai, Laotian and Japanese specialists of trematodiasis. Thereafter, the

|  |  |
|--|--|
|  | <p>Project carried out the collection of metacercaria from other regions of transmitting snails and fish (especially the muscle) and performed the identification species of them by detecting <i>O. viverrini</i> DNA or <i>H. taichui</i> DNA using LAMP-based detection methods. As the results, not only the metacercaria of <i>O. viverrini</i> but also that of <i>H. taichui</i> were detected in the muscles of the fishes. Given that the metacercaria of <i>O. viverrini</i> are limited to infect with the fish scales, the improvement of sanitation of cutting boards and/or changing the cooking methods can be a solution for the reduction of the risk of infection; however, it is revealed that the <i>O. viverrini</i> and other trematoda mainly infect in muscles, not in scales.</p> <p>At the time of the Mid-term Review, consideration is given to conducting tests to prove the existence of <i>O. viverrini</i> on cutting boards, as well as implementing intervention from the viewpoint of "positive deviance" geared to sustaining conditions of non-infection following mass extermination by praziquantel; nevertheless, as aforementioned, the Project could not conclude that un-washed cutting boards was a transmitting route of <i>O. viverrini</i>. For this reason, the Project did not carry out any intervention activity based on the "positive deviance" as of the time of the Terminal Evaluation. Nevertheless, the lack of detection of <i>O. viverrini</i> DNA from cutting boards do not denies completely that household hygiene, represented by the statuses of the boards, is a positive deviance of maintaining non-infection status following the deworming. Therefore, the research group of the University of Tokyo intends to continue the study by expanding the scope of the study from individual households in endemic areas to the village level even following the end of the project period.</p> |
|--|--|

| <p>Output 5<br/>Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened.</p> |   |
|--|---|
| Activities   | Performances  |
| <p>5-1. To provide guidance and collaborate with the researchers in the IPL according to the collaborative research plan.</p>                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>● In accordance with the collaborative research plan, the JICA long-term experts and 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.</li> </ul> <p>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. In 2017, two (2) IPL staff and two (2) Laotian graduate students studying at the Graduate School of the UR presented their research findings and outcomes at the National Health Research Forum under the guidance of Japanese researchers. In addition, a Laotian researcher (Lao TPHI staff) who had been studying at the master's course at the Graduate School of the UR compiled the results of malaria research conducted in Lao PDR as a research article and published it in an international journal (Tropical Medicine and Health). Meanwhile, IPL staff are working on drafting a research article on the research of <i>Schistosomiasis mekongi</i>, which is supposed to be submitted to an international journal by the end of the project period.</p> <p>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 have been actively implemented under the guidance of the JICA experts.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● From Japan too, postgraduate students have participated in the Project as research members<sup>18</sup>, and they have participated in the field surveys and joint research at IPL together with the young Lao scientists. This has been mutually stimulating</li> </ul> |



<sup>18</sup> 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.



|  |   |
|--|---|
|  | for both sides.   |
| 5-2. To invite Lao researchers to NCGM, and to conduct collaborative researches.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● So far, five (5) Laotian 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) Lao junior scientist in May 2014, one (1) IPL Lao technician in February 2015, one (1) IPL Lao junior scientist in February 2016 and one (1) IPL Lao technician 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.</li> <li>● One (1) staff member of the NIOPH (currently, the Lao TPHI) 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 had acquired a master's degree in the field of malaria epidemiology, which is related to the project research field in September 2017.</li> <li>● 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.</li> </ul>  |
| 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. | <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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. The said staff had received the one-month training with the theme of molecular parasitology at the NCGM in Japan in February 2017.</li> <li>● 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 5 southern provinces (<i>Savannakhet, Salavan, Champasak, Sekong</i> and <i>Attapeu</i>) and the adjacent Savannakhet Province in the central region. Lectures were also conducted on the basics of DNA and genetic diagnostic technologies (PCR and LAMP methods).</li> <li>● In addition, as shown in the Activity 3-1, the Project commenced collecting samples from suspected malaria patients at medical facilities (provincial hospitals, district hospitals and health centers) in <i>Ponsari</i> Province, the northernmost part of the Lao PDR, which borders <i>Yunnan</i> Province of China, from November 2017, and analyzed the artemisinin-resistance responsible gene (<i>K13</i>). In accordance with this activity, training of the theory and practice on the prevention, diagnosis and treatment of parasitosis were carried out for 1 staff from 8 health facilities in the areas of high malaria incidence. Moreover, the lecture on the basics of genetic diagnosis technology (PCR method and LAMP method) was also carried out.</li> <li>● In May 2016, the JICA long-term experts took the initiative in 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.</li> <li>● The Project conducted Refresher Training Course in 2016 and 2017 geared to a total of 156 persons who had taken part in the training of the previous year.</li> </ul> |
| 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.                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.<br/>Concerning the control of malaria and Schistosomiasis mekongi, the JICA long-term expert (NCGM researcher) has been participating as an IPL representative 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.<br/>Particularly concerning malaria diagnosis, the JICA expert explained that there are a certain number of asymptomatic carriers that cannot be detected by the</li> </ul>  |

|  |   |
|--|---|
|  | <p>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.</p> <p>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.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.</li> </ul> <p>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 <i>S. mekongi</i> 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.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.</li> <li>● For your information, the JICA long-term expert (NCGM researcher) has been participating in the WHO meetings as a temporary advisor, providing technical advice on countermeasures against malaria and against schistosomiasis in the Greater Mekong Sub-region. Details of the participated meetings are as follows: Mekong Schistosomiasis Countermeasures Conference in May 2017 (<i>Shanghai</i>); Anti-Drug-Resistant Malaria Conference in September 2017 (<i>Ho Chi Minh</i>); Anti-Drug-Resistant Malaria Conference in March 2018 (<i>Bangkok</i>); and Anti-Drug-Resistant Malaria Conference in September 2018 (<i>Luang Prabang</i>).</li> </ul> |
| <p>5-5. To hold the workshop in the LNHRF to present the outputs of research activities.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>● In 2014, 2015, 2016, 2017 and 2018 in the annual LNHRF, a SATREPS Project session was chaired by the Chief Advisor of the Project (the Department Director of the NCGM) or the JICA long-term expert (NCGM researcher), and the both Japanese and Lao project members presented the results of their research.</li> <li>● 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.</li> <li>● A total of seven (7) project members, including two (2) young Laotian researchers at IPL, two (2) Laotian researchers studying at the graduate school of UR and one (1) Japanese post-graduate student, presented the research results of the Project, and a vigorous question-and-answer session took place in the Forum held in 2017.</li> <li>● A total of nine (9) project members, including three (3) young Laotian researchers at IPL, one (1) Laotian researcher studying at UR and three (3) Japanese post-graduate students, are planned to present the research results of the Project to the Forum in 2018.</li> <li>● 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.</li> </ul>   |



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. |  |
| OVI  | Achievements   |
| 1. Both sensitivity and specificity of the newly developed diagnostic methods for malaria show more than 90%.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 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.</li> <li>• 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.</li> </ul>   |
| 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.             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• The Lao MOH has not conducted investigation of <i>S. mekongi</i> intermittent host snails. On the other hand, the diagnosis of schistosomiasis meconium is rarely made in health facilities in the Laotian clinical settings. Therefore, although genetic diagnosis of <i>Schistosoma mekongi</i> using patients' fecal samples in clinical practice as defined by this OVI has not been carried out, the Project conducted a prevalence survey of the intermediate host snails using the LAMP-based DNA detection method in <i>Khone</i> Island, the <i>Khone</i> District of <i>Champasak</i> Province, in order to develop a risk map of <i>Schistosoma mekongi</i>. Since 2016, meanwhile, the MOH has conducted a prevalence survey by randomly selecting residents of selected villages each year in endemic areas (some parts of the <i>Khon</i> District and <i>Mounlapamok</i> District in <i>Champasak</i> Province). The Project has been collaborating on these surveys and provided testing services for it using Kato-Katz microscopic examination and ELISA method. As aforementioned, it is deemed that the clinical diagnostic service provision using the highly sensitive and specific genetic testing method such as PCR method and LAMP method does not meet the practical need in the Lao PDR at this moment. In other words, given the nature of the disease and Lao's needs, there is no need for widespread use of genetic testing such as PCR and LAMP, as shown in the Output 1 for <i>Schistosomiasis mekongi</i> at this moment.</li> <li>• The sensitivity of the LAMP-based <i>S. mekongi</i> DNA detection method developed in the Project is 8 times higher than that of conventional microscopic method, and the Project has been using the said method for the project research to investigate intermittent host snails and human fecal samples. That is to say, the LAMP-based DNA detection method for the diagnosis of <i>Schistosomiasis mekongi</i> is technically made. As mentioned above, <i>Schistosomiasis mekongi</i> does not usually need to be tested and diagnosed in local medical facilities, and it is expected to be utilized in MOH-led prevalence surveys and/or research purposes conducted by the IPL etc. The Lao MOH is expecting that IPL be placed as a reference laboratory for the diagnosis of <i>Schistosomiasis mekongi</i>.</li> <li>• The MOH, with the support of WHO, has been conducting prevalence surveys of <i>Schistosomiasis mekongi</i> by testing community residents in the endemic area with a combination of the serodiagnostic methods (ELISA) developed by the Project, in addition to conventional microscopic diagnostics. The IPL is the only facility in the Lao PDR where serodiagnosis of <i>Schistosomiasis mekongi</i> can be performed: therefore, it can be said that the diagnostic method developed by the Project has contributed directly to the implementation of national survey.</li> <li>• In addition, since schistosomiasis is zoonotic diseases, it is necessary to examine and treat not only humans but also potentially-infected animals in order to eliminate schistosomiasis from countries and/or regions. In 2017, at the request of the WHO-WPRO, the MOH, in collaboration with the Ministry of Agriculture and Forestry, conducted an animal prevalence survey geared to water buffalo.</li> </ul> |

|   |   |
|---|---|
|   | <p>cattle, canine, swine and goat that could come into contact with Mekong River water. Genetic testing of fecal samples from animals is being carried out in the IPL using the LAMP-based DNA detection method developed in the Project. Though the testing work has not been completed as of the time of the Terminal Evaluation, the Project detected one positive for <i>S. mekongi</i> DNA in one canine fecal sample. This result suggests that canines should also be considered as a target for countermeasure of Schistosomiasis mekongi control. Since the LAMP-based DNA detection method has been utilized in the initiative for the elimination of the disease, it is possible to say that the needs of developing DNA detection methods for the diagnosis of Schistosomiasis mekongi in the Lao PDR are fulfilled in a way different from the original plan.</p>  |
| <p>3. The developed genetic diagnostic method for <i>Opisthorchis viverrini</i> is used at the IPL as sub-diagnostic method for all patients from target areas.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>● The Project is established of the LAMP-based DNA detection method for the diagnosis of <i>Opisthorchiasis viverrini</i>; as a result, the Project found that many fish-borne flukes such as <i>H. taichui</i>, which excrete eggs morphically-similar to that of <i>O. viverrini</i>, are coexistent in the endemic area of <i>Opisthorchiasis viverrini</i>, and suggested that the prevalence of <i>Opisthorchiasis</i> based on the microscopic diagnosis can be overestimated.</li> <li>● Moreover, the IPL performs DNA detection testing as supplementary information from samples taken from suspected <i>Opisthorchiasis viverrini</i> 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," it was interrupted at the time of the Mid-term Review that the intention of the OVI should be to establish a method that can implement <i>O. viverrini</i> DNA detection at the IPL. As with <i>Schistosomiasis mekongi</i>, <i>Opisthorchiasis viverrini</i>, in general, is not necessarily diagnosed by laboratory testing in local medical facilities against the background of the high infection rate caused by food habit. Actually, there have been no requests from health facilities to examine the suspected cases of <i>O. viverrini</i> infection throughout the project period. On the other hand, the IPL also participated in the pilot study of food-borne trematodes conducted by the Lao MOH in <i>Champon</i> District, <i>Savannaket</i> Province, and the prevalence of <i>O. viverrini</i> infection in human and intermediate host snails will be investigated using the LAMP-based DNA detection method. For these reasons, there is no need for the dissemination of the LAMP-based DNA detection method for the diagnosis of <i>Opisthorchiasis viverrini</i> as a clinical laboratory service in local medical facilities, etc. as stipulated in the Output 1, and it is expected by the MOH that the IPL be equipped with a testing function for prevalence surveys and research as a reference laboratory. Thus, it can be said that the Project fulfilled the need for the development of genetic testing methods for the diagnosis of <i>Opisthorchiasis viverrini</i> in the Lao PDR in a manner different from the original plan.</li> </ul> |
| <p>4. At least 5 scientific papers on research are published in peer-reviewed journals.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● The Project has published a total of 6 scientific papers with regard to research results based on the genetic diagnosis techniques such as PCR and LAMP as of the time of the Terminal Evaluation.</li> <li>● Moreover, At the time of the Terminal Evaluation, a research article is being prepared on the risk mapping of <i>Schistosomiasis mekongi</i> by correlating the LAMP-based <i>O. viverrini</i> detection with the data from satellites.</li> <li>● It is anticipated more research articles will be published in international journals even following the termination of the Project using existing samples and data collected within the project period.</li> </ul>  |

As was described in the achievements of OVIs for the Output 1 above, the Project has developed gene detection methods based on the PCR and/or LAMP technologies for the diagnosis of malaria, *Schistosomiasis mekongi* and *Opisthorchiasis viverrini*, and applied them for the project research as well as MOH/WHO-led prevalence surveys geared to humans, animals, snails and so on. The scientific findings and outcomes gained through the research activities using the said methods were compiled into academic papers, and the Project submitted and published them in peer-reviewed international journals.



Concerning the LAMP-based DNA detection method for the diagnosis of malaria, the Project introduced it as a *Eiken* Chemical Co., Ltd.-made commercial RDT kit product of "Loopamp<sup>TM</sup>,"



including the detection device to the IPL, the CMPE of the MOH in Vientiane and the SMPs in *Luang Prabang* Province (North), *Savannakhet* Province (Central) and *Champasack* Province (South) with cooperation provided by the *Eiken* Chemical Co., Ltd., and practical use of the method had been commenced as a support method for detecting malaria patients who were sub-microscopic, sub-RDT and febrile. Since those 3 provinces are hubs for administering each area, it can be said that all areas of the Lao PDR are covered via introduction at these 4 locations. However, The SMPs of the three provinces, in which LAMP-based DNA detection methods for malaria diagnosis were introduced, are located far from the rural areas where malaria incidences frequently occur, and it is not utilized as frequently as originally assumed, since the local health professionals were not well-informed. Hereafter, another five LAMP detectors will be introduced to health facilities in the endemic areas with the cooperation of *Eiken* Chemical Co., Ltd., but at the time of introduction, it is necessary that the Project should put efforts to publicize the performance and utilization of the kit to the local stakeholders; at the same time, to introduce the practical operational procedures of the testing services, such as algorithms for selecting eligible patients for genetic diagnosis by LAMP method and specimen transfer method, etc. On the other hand, it was confirmed that LAMP reagents under storage can easily deteriorate with moisture, enough to affect the measurement results as false positive, in usual environment of laboratories in the Lao PDR. Since LAMP-based malaria DNA detection methods are expected to be used in hot and humid malaria-endemic areas such as Southeast Asia and Africa, it is recommended that improvement of the product be carried out, such as individual packaging of reagents, by the time of application for the pre-qualification by WHO. It is a common recognition among stakeholders that it is difficult to disseminate the *Loopamp*<sup>TM</sup> shown in outcome 1 within the framework of the project, since the WHO has already obtained prior certification for the *Loopamp*<sup>TM</sup> and the Lao MOH has to approve the law as an official method based on the results. Given these circumstances, the Project is planning to introduce another five LAMP detectors to district health facilities in the areas of high malaria endemicity, and continue accumulating clinical cases even following the completion of the Project.

Meanwhile, as was shown in the achievements of OVIs above, it seemed unnecessary to provide diagnostic services of both *Schistosomiasis mekongi* and *Opisthorchiasis viverrini* at local medical facilities in the endemic areas, in consideration of the characteristics of those diseases as well as the initiatives taken by the Lao government. Further, the Project, in accordance with the request from the MOH, has been providing testing services using PCR, LAMP and/or ELISA techniques for prevalence surveys performed in endemic areas. For these reasons, it is considered that there is little significance in aiming for “dissemination” (application in the Lao PDR as a laboratory testing service) as stipulated in Output 1. Having said that, both sensitivity and specificity of the said DNA detection methods developed by the Project are very high. Since the MOH expects the IPL to function as a reference laboratory for the diagnoses of *Schistosomiasis mekongi* and *Opisthorchiasis viverrini*, the IPL is necessitated to establish those DNA diagnostic techniques. Therefore, although it is different from the original assumptions, it can be understood that the Project has achieved the development and dissemination of diagnostic methods for both diseases in a alternatively in accordance with the needs of the Lao PDR.

Summing up, it was confirmed that the Project established DNA detection methods for the three target diseases, and applied them to the project research subsequently. At the same time, the application of those methods to each disease control measure have practically contributed to the Lao PDR in the form suitable for the operation required for each of them. For these reasons, it is deemed that the Output 1 is generally achieved as of the time of the Terminal Evaluation in a manner different from the original plan.

b) Output 2

Achievements of the Output 2 are as indicated below.

| [Output 2]<br>Temporal and spatial epidemiological situations of pathogens and vectors of malaria. Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini is monitored. |   |
|--|---|
| OVI  | Achievements  |
| 1. eBURST diagrams using microsatellite markers are temporally made.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.</li> </ul> <p>Therefore, the achievement level of Output 2 in the Terminal Evaluation will be measured by comprehensively evaluating the research findings so far.</p>   |
| 2. At least 2 scientific papers on research are published in peer-reviewed journals in five years.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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<sup>19</sup>. Moreover, the Project published a research article concerning the detection cryptic infection of malaria using PCR-based genetic diagnosis in an international journal of the PLOS Neglected Tropical Disease in 2017<sup>20</sup>.</li> <li>● As of the time of the Terminal Evaluation, the Project published a research article concerning the analyses on the chloroquine resistance-responsible gene and neighboring microsatellite DNA markers of <i>P. falciparum</i> by population-genetic techniques in an international journal of the Parasitology International<sup>21</sup>.</li> </ul> |

Monitoring of spatiotemporal changes in gene structure as a population of malaria pathogens and vectors has been combined with researches of drug-resistant malaria. Research findings and outcomes related to the appearance and spread of drug resistance are described in the Output 3.

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. 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. The Project also revealed that asymptomatic malaria infection without typical symptoms of malaria infection such as high fever existed to a certain extent. 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 Terminal Evaluation has been an important achievement of the Project in consideration of future elimination of malaria. The Project considers the measures for sub-microscopic and sub-RDT malaria as well as asymptomatic malaria are of great importance and unignorable factors in enhancing efforts to eliminate malaria, and is supposed to move on to more detailed and expanded research including the aspect of “treatment” continuously even after the end of the project period.

<sup>19</sup> Pongvongsa T. et al. Household clustering of asymptomatic malaria infections in Xepon district, Savannakhet province, Lao PDR. Malar J. 2016;15:508.

<sup>20</sup> Iwagami M. et al., The detection of cryptic Plasmodium infection among villagers in Attapeu province, Lao PDR. PLoS Negl Trop Dis. 2017 11(12): e0006148.

<sup>21</sup> Iwagami M. et al., Pfert genotypes and related microsatellite DNA polymorphisms on Plasmodium falciparum differed among populations in the Greater Mekong Subregion. Parasitol Int. 67: 816-823.2018.

In relation to this, the Project has brought out the prevalence of G6PD deficiency through the genetic epidemiological analyses by testing its enzyme activity of community resident, since G6PD deficiency has the potential to trigger a severe adverse reaction (acute hemolytic anemia) 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; thus, it is deemed that the Project provided important evidences for considering mass drug administration of *primaquine* for extermination of *Plasmodium vivax*.

Concerning Schistosomiasis mekongi, the countermeasures of recent years have led to a major decline in the number of patients. 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 by *praziquantel* is carried out once a year, it has been clearly shown that a number 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 is difficult to evaluate determining factors as well as spreading factors of endemicity based on the molecular epidemiological approach.

As another achievement under the Output 2, the Project identified the first case of human infection with *P. knowlesi* in the Lao PDR. As a result of the rapid diagnostic test in the practical clinical setting, this case was diagnosed as positive for Vivax malaria. *P. knowlesi* is genetically similar to *P. vivax*, and it is known that not only the results of rapid diagnostic tests but also PCR may be mistakenly diagnosed as Vivax malaria. Therefore, it is probable that among the cases diagnosed as Vivax malaria, there are actually mixed cases of *P. knowlesi* infection in the Lao PDR. It is known that human infections with *P. knowlesi* can be severe in some cases, and many deaths have been reported in Malaysia. Combination therapy with chloroquine or artemisinin has been still effective and drug resistance has not been reported as of now. Having said that, because *P. knowlesi* grow faster in erythrocytes (one cycle in 24 hours) than other human plasmodium, this research results of the Project warns that even if the diagnosis was Vivax malaria in a rapid diagnostic test, it is necessary to carry out the treatment with appropriate antimalarial drugs without fail.

In this way, concerning malaria, important epidemiological data has been gathered in the Project as of the Terminal Evaluation and those findings of advanced analyses using population-genetic techniques have also been published as scientific articles in international journals. Simultaneously, the Project has been providing the stakeholders of malaria control such as the MOH and WHO with those findings as convincing evidences for making policies, countermeasures and so on in the Lao PDR. Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, it became a common understanding that the said two diseases are not applicable to the analyses based on population genetics as aforementioned; therefore, it is deemed from general assessment that the degree of achievement of the Output 2 has largely been appropriate as of the time of the Terminal Evaluation.



c) Output 3

Achievements of the Output 3 are as indicated below.

| [Output 3]<br>Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed.   |  |
|---|--|
| OVI   | Achievements   |
| 1. At least 2 markers for the drug resistant malaria are elucidated.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>● The project did not search for novel marker genes contributing to the acquisition of drug resistance, but instead carried out surveys and research utilizing the known drug resistance marker (<i>K13</i>). This is because it is possible to estimate the mode of spread of drug-resistant malaria by investigating the genetic variation of the known marker, and it can be easily compared with data from other countries or regions.</li> <li>● Although the searching for novel marker genes is of valuable scientific research, "At least 2 markers for the drug resistant malaria are elucidated" does not constitute a measure of the achievement level of "Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed".</li> </ul>   |
| 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. | <ul style="list-style-type: none"> <li>● The research findings of the joint research of the Institut Pasteur International Network on the artemisinin resistant genetic mutation of <i>Falciparum malaria</i> plasmodium were published in the New England Journal of Medicine, one of the most prestigious journals in the world, in 2016<sup>22</sup>. 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. For your information, the Impact Factor of the said journal was 72.406, and the journal is widely-recognized as one of the greatest journals in natural and social sciences.</li> <li>● In 2018, a scientific paper on the spread of chloroquine-resistant malaria in the Greater Mekong Sub-region (Thailand, Cambodia, Vietnam and Lao PDR) was published in an international journal of "<i>Parasitology International</i>".</li> <li>● Blood samples from suspected malaria patients have continuously been collected from all four southern provinces in the southern region and one province in the central region (<i>Savannakhet</i> Province) from 2015, and sample collection has also commenced in the northernmost province of the Lao PDR (<i>Ponsari</i> Province) from 2017. At the time of the Terminal Evaluation, the Project analyzed the blood samples obtained from these 6 Provinces for the distribution of gene mutation responsible for the drug resistance, and a scientific paper which compiled the results was submitted to an international journal and being peer-reviewed at this moment.</li> </ul> |

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 *pfert* 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.

Meanwhile, the Project carried out massive survey for the analyses of the mutation on the *K13* gene that is considered to be related to the resistance against artemisinin. The analysis results revealed that artemisinin-resistant protozoa from Cambodia spread gradually from southern to northern parts of the Lao PDR as humans moved, reaching the northernmost *Ponsari* Province by the end of 2017. These results suggest a risk that artemisinin-resistant malaria may spread from *Poncealy* Province of the Lao PDR to *Yunnan* Province of China. From these research findings and outcomes, it is

<sup>22</sup> Menard D et al., A Worldwide Map of *Plasmodium falciparum* K13-Propeller Polymorphisms. New England Journal of Medicine. 374: 2453-2464. 2016.

demonstrated that it is of greater importance to implement active surveillance on multidrug resistant genes in the Lao PDR.

As aforementioned, the Project has gained important research findings and outcomes on the mechanisms of the emergence and dissemination of the drug resistance malaria as of the time of the Terminal Evaluation. Those findings and outcomes were published in international journals as academic articles, one of which was published in a world-class prestigious journal. Those have also been supplied to relevant organizations as important evidences for advancing countermeasures against malaria in the Lao PDR, in the region and even globally. For these reasons, the achievement level of the Output 3 is deemed to be significantly high at the time of the Terminal Evaluation.

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. |   |
| OVI   | 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.                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.<br/>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%).<br/>However, since the LAMP-based DNA detection method (Loopamp™), which has far higher detection sensitivity than that of the conventional microscopic method and immunochromatography-based RDT, it is thought 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.</li> <li>● 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.</li> <li>● Concerning Opisthorchiasis viverrini, it is highly likely that the results of diagnosis by the microscopic method are unreliable (over estimation) and it is deemed that the LAMP-based DNA detection method provides the value of true infection rate, which is much lower than that from the conventional microscopic diagnosis.</li> </ul> |
| 2. Education material(s) for the prevention of 3 diseases are developed and submitted to the local government.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>● The Project did not prepare Information, Education and Communication (IEC) materials concerning disease prevention.</li> <li>● 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.</li> <li>● 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. The Project examined the possibility that maintaining the sanitary status of the cutting boards was a positive deviance for maintaining non-infection status of <i>O. viverrini</i> following mass deworming with praziquantel. Given that the Positive Deviance is scientifically proved, it is supposed to be utilized as an evidence for modifying or developing teaching materials for community residents. Nevertheless, the Project could not conduct an intervention trial for the demonstration of positive deviance, as <i>O. viverrini</i> DNA was not detected from any cutting boards.</li> </ul>   |

Concerning malaria, the surveys and analyses on the endemicity, distribution and diffusion of the drug-resistant malaria have been carried out under the Output 1, 2 and 3. Regarding Schistosomiasis mekongi, the Project established the DNA detection method with high sensitivity and specificity in the IPL, and applied it to research on infection rates not only in humans but also vector snails and animals. The Project conducted a combined analysis of these infection rate results and geographic data from satellites provided through JAXA collaboration to create a risk map and to analyze risk factors for infection. Similarly, concerning Opisthorchiasis viverrini, and the Project developed the DNA detection method with high sensitivity and specificity, and used for the project research. It is worth noting that through the development of the DNA detection method for Opisthorchiasis viverrini, the Project revealed that the microscopic examination actually overestimated the prevalence of the disease by mis-distinguishing trematodes, which are morphologically similar to *O. viverrini* as *O. viverrini* to a certain extent. The research findings and outcomes obtained through these activities have been provided as convincing evidences not only to the MOH but also to the WHO and other organizations engaged in malaria control in the Lao PDR and the region, and are used directly and indirectly for policymaking, surveillance and implementation of countermeasures.

Concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini in addition to malaria, it is questionable whether it is necessary to develop new IEC materials for the education and awareness raising toward community residents since school textbooks already contain information about mosquito prevention measures, avoiding consumption of raw fish, using toilets and washing hands. 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. It was suggested that this can be a “positive deviance” for the prevention of infection at the time of the Mid-term Review; however, the Project could not conclude that un-washed cutting boards was a transmitting route of *O. viverrini*. For this reason, the Project did not carry out any intervention activity based on the “positive deviance” as of the time of the Terminal Evaluation. Nevertheless, the lack of detection of *O. viverrini* DNA from cutting boards do not denies completely that household hygiene, represented by the statuses of the boards, is a positive deviance of maintaining non-infection status following the deworming. Therefore, the research group of the UT intends to continue the study by expanding the scope of the study from individual households in endemic areas to the village level even following the end of the project period.

As was just described, it was not possible to construct a means for the prevention of infection of the inhabitants based on scientific evidence such as position deviance within the project period; nonetheless, the Project established DNA detection methods with high sensitivity and specificity in the IPL, which greatly contributed to functioning the Laos-Japan parasitology laboratory as a reference laboratory for those target diseases. Since the sharing of research findings and outcomes of the Project with stakeholders is deemed to directly contribute to the monitoring of the diseases in the Lao PDR. Since the laboratory is expected to be maintained even after the end of the project period, the Output 4 is considered to be largely achieved at the time of the Terminal Evaluation.

e) Output 5

Achievements of the Output 5 are as indicated below.

|  |              |
|--|--------------|
| [Output 5]<br>Capacity of researchers and administrative officers for the control of malaria and other parasitic diseases is strengthened. |              |
| OVI  | Achievements |



|   |   |
|---|---|
| <p>1. Basic training program on malaria and parasitic diseases control for Lao researchers is conducted once every year.</p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>● Basic training concerning malaria and parasitic disease control was conducted for 156 health personnel in high endemic areas in 4 southern provinces (Salavan, Champasak, Sekong, Attapeu) and the adjacent Savannakhet Province in 2015. The Project implemented refresher training in 2016 and 2017. In addition, in 2017, basic training on malaria control was conducted geared to 8 health personnel from Ponsary Province, the northernmost province of the Lao PDR. Even after the completion of the Project, two Japanese private companies that are currently conducting joint research with the NCGM have decided to provide funding support to the research activities in the Lao PDR. Accordingly, the NCGM is preparing for maintaining a joint research system with IPL. Since joint research in the above-mentioned five provinces will be sustained even after the completion of the Project, basic and refresher training will continuously be sustained hereafter.</li> <li>● 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.</li> <li>● The Project provided a staff of the Lao TPHI with the training on molecular parasitology at the IPL in April 2017.</li> <li>● In May 2017 and May 2018, the IPL provided 24 health personnel of provincial and military hospitals with one-week training, and the Project gave lectures (theory) and practice on parasitosis such as malaria, Schistosomiasis mekongi, Opisthorchiasis viverrini, teniasis, paragonimiasis, paragonimiasis, etc.</li> <li>● The Project provided a total of 10 master's students of Institut Francophone de Medecine Tropicale (IFMT) with the training on parasitic diseases at the IPL in December 2017.</li> </ul> |
| <p>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.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>● More than 54 presentations based on the project research have been made by Laotian researchers throughout the project period in domestic or international conferences.</li> <li>● In 2016, a research paper, prepared in the Malaria Journal by a Lao researcher (chief of the SMPE of the Savannakhet PHO) as a first author<sup>23</sup>.</li> <li>● In 2017, a Laotian researcher of the Lao TPHI, who had acquired the master's degree at the UR, published a research article on the risk factors of malaria infection in an international journal<sup>24</sup>.</li> <li>● Another 6 research articles, co-authored by Laotian researchers, have been published in international journals, and a total 3 articles are under peer-review as of the time of the Terminal Evaluation.</li> <li>● As of the time of the Terminal Evaluation, a Jr. scientist of the Lao-Japan Parasitology laboratory, the IPL is working on the drafting of a research article regarding Schistosomiasis mekongi and is anticipated to submit it to an international journal by the end of year 2018.</li> </ul>  |
| <p>3. Annual report of activities by researchers and administrative officers are presented in the NHRF.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● Reports on the activities of the related researchers and administrative officers are given in the LNHRF every year.<br/>2018The research findings and outcomes of the Project had reported at the forum in October 2018.</li> </ul>  |

At the Lao-Japan Parasitology Laboratory of the IPL, 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, thereafter, discussion opportunities have been significantly increased to improve the capacity of Lao laboratory staff members in the areas of planning research and interpreting results and so on. As a result, the Laotian researchers became capable of planning field surveys, collecting samples and perform DNA analyses using

<sup>23</sup> Pongvongsa T. et al., *Household clustering of asymptomatic malaria infections in Xepon district, Savannakhet province, Lao PDR*. Malaria Journal. 15: 508. 2016.

<sup>24</sup> Inthavong N. et al., *Individual and household factors associated with incidences of village malaria in Xepon district, Savannakhet province, Lao PDR*. Tropical Medicine and Health. 45: 36. 2017.

advanced research instruments by themselves. Further, under the guidance of the JICA experts (researchers), they have been actively preparing abstracts and conference presentation slides in English and practicing presentations; as a result, some Laotian members made presentation of the project research orally in English at the National Health Research Forum. Having said that, since the young Laotian members still have less experience of writing papers in English, it will also be necessary for them to continue independent efforts such as reading English papers and so on.

Meanwhile, the Project has offered basic and refresher training opportunities 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. Even following the termination of the Project, it is anticipated that the IPL and/or IPL Lao-Japan parasitology laboratory will continue to provide such training opportunities for the local health personnel.

In addition, the JICA expert (NCGM researchers) stationing in the IPL has been participating as an advisor in meetings on various infectious disease countermeasures held by the MOH, WHO and other partners, and continued to share technical advice and research findings and outcomes generously at meetings. In addition, the Project has provided direct support to the MOH by preparing implementation protocols for prevalence surveys and other activities, which may have contributed significantly to the capacity building of administrative officers and personnel in the national research institutes engaged in infection control in the Lao PDR.

As has been described, the Project has been offering various opportunities for capacity building for various human resources engaged in infectious disease countermeasure and research in the Lao PDR, and is expected to continue after the project period ends. Accordingly, the degree of achievement concerning the Output 5 is thought to generally be appropriate as of the time of the Terminal Evaluation.

### 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. |  |
| OVI   | 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.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>● Since the Lao MOH is already compiling a malaria risk map in cooperation with NGOs, no such map will be compiled in the Project.</li> <li>● Concerning Schistosomiasis mekongi, the results concerning detection of <i>S. mekongi</i>-infected snails in a part of surveyed areas (including locations) of <i>Khong</i> District, <i>Champasack</i> Province (<i>Don Long</i> Island and <i>Don Khon</i> Island) were shared with the CMPE of the MOH. In the <i>Don Khon</i> Island, the Project has been performing the surveys continuously in 2016, 2017 and 2018. Combining the data regarding the detection of infected snails from the aforementioned surveys with geographic data obtained from satellites, the Project created a risk map for Schistosomiasis mekongi.</li> </ul> <p>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 worth preparing a risk map in the villages where the infected persons are found; that is, not necessarily for the villages with no infected persons.</p> |

|   |   |
|---|---|
|   | <ul style="list-style-type: none"> <li>● In addition, a combined analysis of satellite data and the prevalence of <i>S. mekongi</i> infection in humans showed that the prevalence of Schistosomiasis mekongi tended to increase with increasing water level during the dry season in areas where water levels at riverbank changed during the dry and rainy seasons (areas with relatively shallow water levels). Meanwhile, there was a trend towards lower infection risk in areas with little change in water levels at riverbank during the dry and rainy seasons (areas with relatively high water levels).</li> <li>● 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. In addition, based on the information of the MOH of the Lao PDR, the endemic area of <i>O. viverrini</i> is widely-spread in six provinces in the south of Borikhamxay Province except Sekong Province. Moreover, because freshwater fish are the source of infection, even those living in non-endemic areas may be infected with <i>O. viverrini</i> if they eat infected fish collected in endemic areas. Therefore, the Project concluded that the value of risk mapping for Opisthorchiasis viverrini is not necessarily high.</li> </ul>   |
| <p>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.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>● 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.</li> <li>● 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.</li> <li>● 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.</li> <li>● The Project had a series of discussions with the MOH and WHO; consequently, the LAMP-based DNA detection method for the diagnosis of malaria were introduced to three PHOs (<i>Luang Prabang, Savannakhet and Champasak</i>) with the support of the Eiken Chemical Co., Ltd. The "National Strategic Plan for Malaria Control and Elimination", issued by the MOH in 2016, specifies that "CMPE collaborates with technical partners to introduce molecular diagnostic techniques for malaria into province-level laboratories". The Strategic Plan also specifies that "the IPL supports and implements research planning on drug resistance". Further, in the "Surveillance and Response in Elimination Provinces" issued by the Lao MOH in November 2017, the need for detection of malaria infections, including molecular diagnostic techniques, as claimed by the Project, was described. For these reasons, it is deemed that the Project has been affecting the policy-making of the Lao Government practically.</li> </ul> |

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 Terminal Evaluation, and these findings have even been published as scientific papers. 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.

Meanwhile, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini, development work on the LAMP-based DNA detection method had been completed from the technical point of view. All WHO member countries are required to strengthen the "preparedness" against infectious

diseases, in accordance with the International Health Regulations (IHR), by preparing options for testing and diagnostic methods. Accordingly, the Project established DNA detection methods that have high sensitivity and specificity with respect to such parasitic diseases, and significantly contributed to the IPL to function as the reference laboratory for the said diseases in the Lao PDR. Furthermore, the research findings and outcomes gained using those detection methods have been used as the evidences for the betterment of the infection control in the Lao PDR.

As has been described above, the Project has created a variety of research findings and outcomes that will contribute to the countermeasure of parasitic diseases in the Lao PDR. The IPL Laos-Japan Parasitology Laboratory, which is the main body of the project implementation, has already been built into the system of infectious disease control in the Lao PDR as a supplying body of scientific evidences and as an implementation organization of direct countermeasures, making it an indispensable existence. In view of the above points, the achievement of the Project Purpose at the time of the Terminal Evaluation is highly satisfactory.

### 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 2014, 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. 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. In addition, the Pasteur Institute group promotes collaborative research between regional and even globally, and as one of global collaboration, the international network of Pasteur Institutes published a research article entitled “*A Worldwide Map of Plasmodium falciparum K13-Propeller Polymorphisms*”, of which data and analysis results in the Lao PDR were provided by the Pao-Japan parasitology laboratory of the IPL, in a globally authoritative journal (the New England Journal of Medicine). The impact factor of the journal for that year was 72.406. Part of the project's achievements would have led to global impact through collaborative relationships with related organizations in the Lao PDR.

Meanwhile, as was also indicated in “*the achievement of the Project Purpose*”, the Project shares information with the MOH CMPE (administrators of the Project on the Lao side) as well as the Lao TPHI on a day-to-day basis. Further, a Laotian project member of the Lao TPHI was promoted to the vice director of the NCLE; thus, it is anticipated to expand the collaboration and/or cooperation between the IPL and the NCLE hereafter. Besides, the Project, throughout the project period, has

actively been sharing research findings, providing technical advice and exchanging views and opinions concerning malaria and other parasitic disease countermeasures with partner agencies in various committees and conferences.

Thus, the Project has been promoting the collaborative research in the IPL with domestic partners such as the MOH and other national research institutes, international partner organizations such as WPRO of WHO, foreign research institutes in Thailand and Yunnan Province of China, and even the international network of the Pasteur Institutes. Through the project activities for five years, the cooperation with those organizations was established, and the cooperation was further strengthened through the creation of research results, various research activities and implementation of conferences. The Japanese research organizations such as the NCGM, the UT and the UR are expected to continue their joint research activities at IPL or in the Lao PDR even after the project period ends. Under such good communication, they are expected to continue to provide various information not only to Lao PDR but also to the world, and to contribute through science and technology, even after the project period ends.

## 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.

On the other hand, as shown so far, the Project (IPL Lao-Japan Parasitology Lab) has carried out research on malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini in the Lao PDR, and as a result, has created various research findings and outcomes. Those findings and outcomes have directly been used by the Lao MOH and other partner organizations such as the WHO-WPRO as evidences for developing policies, strategies and guidelines. The IPL is also cooperating as the only agency capable of performing accurate testing services based on the gene detection technology, such as prevalence surveys conducted by the MOH in collaboration with WHO. In addition, a JICA long-term expert (a NCGM researcher) stationed in the IPL has continuously been participating domestic and international meetings at various level throughout the project period as a temporary advisor. In the view of the fact that the IPL Lao-Japan Parasitology Lab has been incorporated into the infectious disease countermeasure mechanisms in Lao PDR and even the western pacific region; therefore, it can be said that the ownership of the Lao PDR for the Project is very high.

## 4 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. Further, in the Strategic Plan, it is clearly mentioned that the CMPE of the MOH should introduce molecular diagnostic techniques to the provincial-level laboratories with the support of partner organizations as well as the IPL should take initiative to plan and implement the research on the drug-resistant malaria. These can be the results of the project's efforts to demonstrate the necessity of addressing asymptomatic malaria cases and of researching the drug resistance; simultaneously, resulted in further enhancement of the relevance of the Project.

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.

Based on the above, the consistency of the Project Purpose, aiming to strengthen the function of research and administrative organizations responsible for the control of malaria and other parasitic diseases, to implement evidence-based countermeasures for the control and elimination of the said diseases and to enhance the capacity of local health professionals engaged in the infectious disease control, with the Laotian health policies has been highly maintained throughout the project period.

- 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<sup>25</sup> areas for assistances.

“*Global Action Plan on Antimicrobial Resistance*” was adopted at the WHO General Assembly held in May 2015, and the Plan demanded the United Nations member countries to develop own national action plan within two (2) years after the Assembly. In compliance with the demand, the Government of Japan published the “*National Action Plan on Antimicrobial Resistance*” (2016-2020), on the basis of the WHO’s Global Action Plan, consisting of five pillars as follows:

1. to improve awareness and understanding of antimicrobial resistance through effective communication, education and training;
2. to strengthen the knowledge and evidence base through surveillance and research;
3. to reduce the incidence of infection through effective sanitation, hygiene and infection prevention measures;
4. to optimize the use of antimicrobial medicines in human and animal health; and
5. to develop the economic case for sustainable investment that takes account of the needs of all countries, and increase investment in new medicines, diagnostic tools, vaccines and other interventions).

The Japan’s action plan was developed by adding a pillar of “*International Cooperation*” to promote AMR control by working multi-sectorally from the international point of view. The cooperation from AMED and the National Institute of Infectious Diseases as well as the JICA’s technical cooperation are clearly mentioned as concrete initiatives. For these reasons, the Project, aiming to contribute the AMR control in the Lao PDR through the collaborative research and technical cooperation, is deemed to be highly consistent with the Japan’s Action Plan.

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 The standpoint of the Project-made highly-sensitive and specific DNA detection methods for diagnosing malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini in the infectious disease control in the Lao PDR

In the Project, DNA detection methods with high sensitivity and specificity were developed for the diagnoses of malaria, Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini. In the project designing mission carried out in 2013, it was assumed that those methods were applied for the project research on prevalence surveys, population genetic analyses, drug resistance, etc.; at the same time, and that it would be “*disseminated*” (introduction to the laboratories in the province level), as stipulated in the PDM. However, in order to disseminate a novel diagnostic method developed in the Project to local laboratories, the method must be approved by the MOH as a

<sup>25</sup> Other three priority areas are “*development of socioeconomic infrastructure*”, “*agricultural development and forest preservation*” and “*improvement of educational environment and human resource development*”.

"Standard Method" in the Lao PDR. Having said that, the Lao MOH does not have a review mechanism to approve it as a "Standard Method"; instead, the MOH gives permission to use it as a laboratory service given that it acquired the prequalification of WHO. The Project introduced the "Loopamp<sup>TM</sup>", developed by the Eiken Chemical Co., Ltd., to the SMPEs of three PHOs, and it is positioned to provide reference information to supplement officially-approved diagnostics such as microscopic examination and RDT. Since the acquisition of WHO prequalification is a prerequisite for the approval of clinical use of "Loopamp<sup>TM</sup>" in the Lao PDR, it is a common understanding among stakeholders that it is impossible to realize the national dissemination of "Loopamp<sup>TM</sup>" within the framework of the Project. Nevertheless, the DNA detection method by LAMP or PCR techniques is important for detecting sub-microscopic and sub-RDT malaria cases and asymptomatic malaria carriers, which are thought to be key factors for the elimination of malaria in future. The NCGM, Japan's principal research institute of the Project, is supposed to continue the collaborative research at the IPL even following the end of the project period, accumulate clinical data to obtain WHO prequalification for "Loopamp<sup>TM</sup>", and continue to study on sub-microscopic and sub-RDT malaria patients and asymptomatic malaria carriers, as well as drug-resistant malaria. As mentioned above, the MOH has declared the introduction of molecular diagnostic techniques to provincial laboratories and the promotion of drug resistance research in the malaria control policies; therefore, the malaria DNA detection methods are recognized as one of the important technologies for the countermeasure of infectious diseases in the Lao PDR.

On the other hand, there is no need to test and diagnose Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini in clinical practices in the Lao PDR. For Schistosomiasis mekongi, annual mass deworming with praziquantel is performed in endemic areas geared to community inhabitants regardless of the signs of infection. Meanwhile, it is known that *O. viverrini* is, at a high frequency, re-infected to community inhabitants following the mass deworming by praziquantel in the endemic areas due to the food habit of the Lao PDR. At the time of the project designing, it was assumed that the dissemination of highly-sensitive and specific DNA detection methods by LAMP or PCR techniques in the laboratories of PHOs and DHOs for these parasitic diseases would be regarded as one of the achievements of JICA's technical cooperation (as stipulated in PDM), but this is unlikely to be significant considering the characteristics of the disease as described above and the current countermeasures in the Lao PDM.

However, the highly-sensitive and specific DNA detection methods for the said parasitic diseases are enhancing the reliability of the results of nationally-performed prevalence surveys. 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; accordingly, the MOH is expecting the IPL to function as a reference laboratory of those diseases in the Lao PDR. 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.

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.**

##### 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 carriers) as well as the mechanism responsible for the emergence and expansion of drug resistance gene mutation. Particularly, the Project demonstrated the actual situation of sub-microscopic and sub-RDT malaria diagnosis, which is usually undiagnosed until the infection status progresses, as well as the prevalence of asymptomatic malaria carriers; that is, the Project has provided important insights into future malaria elimination. In addition, on the research of the drug resistance gene, the Project clarified the frequency of the resistance acquisition against artemisinin, which is the most important anti-malarial medicine in the present treatment, by the provinces and found by the population genetic analysis that artemisinin-resistant malaria rose from Cambodia as the origin to the southern provinces in the Lao PDR, and then reached to the northern end of the country. This finding indicates that there is a risk of introduction of the drug-resistant malaria to *Yunnan* Province in China due to human movement near the border. Accordingly, the Project had just started a joint research (surveillance) with a research institute in Yunnan province, China. The commencement of joint research between the Lao PDR and China implies that the research results of the Project are directly utilized for malaria countermeasures as a regional approach. Furthermore, the research results are multifaceted, including the prevalence of G6PD deficiency, which is important in determining the applicability of drug therapy for the radical cure of Vivax malaria, and the discovery of the first case of human infection with *P. knowlesi* in the Lao PDR. These research results have been published in a number of international journals as academic papers, and also, many presentations have been made by project members at domestic and international conferences (9 original articles published in international journals (Annex7), 39 oral presentations at international conferences, 7 poster presentations and 18 oral presentations at conferences in Japan, as of October 2018). Further, the Project has introduced the simple and highly-sensitive LAMP-based DNA detection method to three (3) major SMPs of the 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. 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. As aforementioned, the Project has generated a number of research findings and outcomes that will contribute not only to the malaria control in the Lao PDR but also to the Greater Mekong Sub-region and even the global malaria countermeasures, and are practically used as evidences for the formulation of policies and action plans for malaria countermeasures. The IPL has also been

contributing directly to the implementation of malaria countermeasures in the Lao PDR and the region. Therefore, the achievement level of the Project in malaria is very high in terms of both collaborative research and technical cooperation.

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. That is to say, since it is not assumed that these detection methods will be used for laboratory testing services in the Lao clinical setting, the said methods are not necessarily authorized as the "Standard Method" at this moment. At the time of the design stage of the framework of the Project prior to its official commencement, it was assumed that the DNA detection methods for diagnosing these 2 target diseases would be introduced to local laboratories by the Project; nonetheless, as explained in the section on "Relevance", such envisaged usage of the methods would not be practical given the nature of the disease and the infectious disease countermeasures taken in the Lao PDR. Meanwhile, they are used as sensitive, specific and reliable DNA diagnostics in the prevalence surveys conducted by the MOH and WHO. The MOH also calls for the IPL to function as a reference laboratory in these diseases from the perspective of IHR compliance. In addition, as with the malaria control countermeasures mentioned above, the JICA long-term expert (NCGM researcher) is assigned as a temporary member of the Advisory Committee on Parasitosis hosted by the MOH and WHO, and the Project has been continuing to share research findings and outcomes and providing technical advice throughout the project period. Thus, concerning *Schistosomiasis mekongi* and *Opisthorchiasis viverrini*, the Project has also contributed to the infectious disease countermeasures the Lao PDR in a different way than originally assumed. Thus, concerning *Schistosomiasis mekongi* and *Opisthorchiasis viverrini*, the Project has also contributed to the infectious disease countermeasures the Lao PDR in a different way than originally assumed. The Project provided testing support to the surveys by testing animal blood and feces with the LAMP-based *S. mekongi* DNA detection method; that is to say, the Project contributed the enhancement of "One-Health" approach in the infectious disease countermeasures in the Lao PDR.

Meanwhile, through the implementation of the project activities several challenges and problems had also been found in light of practical operation of the LAMP-based DNA detection method for diagnosing malaria in a clinical setting in the Lao PDR. Those are regarded as the outside the scope of the Project; in some aspect, the Project had contributed to the extraction of the challenges and problems, which can be emerged in the circumstances and/or environments where the method is used in not just for the Lao PDR but in the malaria endemic areas worldwide. Details of the issued are described in the "Impact" section later.

As aforementioned, 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 deemed that the Project Purpose has generally been accomplished at the time of the Terminal Evaluation.

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 Terminal Evaluation.

- 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 (currently, the Lao TPHI) to compensate for this departure. Thereafter, this staff was promoted to the vice-director of the NCLE, and contributed to the establishment of novel collaborative relationship with the IPL. Further, 1 junior scientist and 1 technical joined the IPL Lao-Japan Parasitology Laboratory in 2018. These staff turnover did not cause any negative influence for the achievement of the Outputs and the Project Purpose. Meanwhile, 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.

### 3) Contributing Factors for Effectiveness

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 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. On the basis of the establishment of such relationship of mutual trust and collaboration amongst the stakeholders through the implementation of the Project, the Project has been providing the scientific evidences for policymaking, cooperating by providing testing services, receiving the funding support from partner organizations, implying the ideal collaboration has been continued from the technical and financial standpoint. Simultaneously with the implementation of project research activities, the Project has been putting efforts to apply the research findings and outcomes to the policy making, countermeasure, etc. as well as to establish the relationship of mutual trust and cooperation with relevant organizations. As a consequence, the Project has made a great contribution to the infectious disease control in the Lao PDR; at the same time, the effectiveness of the Project was enhanced significantly.

### 4) Inhibitory Factors against Effectiveness

No major event that hinders the effectiveness of the Project has observed as of the time of the Terminal Evaluation.

#### 4.3 Efficiency

The efficiency of the Project is high in general.

##### 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. However, it usually 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 Mid-term Review mission had observed that similar problems had happened in other IPL laboratories. In particular, the reagents with short expiration dates can be used in the experiment for a shorter period of time. Following the time of the Mid-term Review, the IPL has appealed to the relevant ministries and agencies for problem solving, but it has not been resolved even at the time of the Terminal Evaluation. Although this did not have a significant negative impact on achieving the Outputs and the Project Purpose, it negatively affected the smooth progress of the Project.

In addition, the Project implemented researches following the acquisition of ethical clearance by the relevant authorities concerned both in Japan and the Lao PDR. Accordingly, the Project submitted research proposals to the National Ethics Committee for Health Research properly; however, it took, in many time, more-than-expected time for the Project to receive the results of the review by the Committee. The Project sometimes have to put a special consideration for the timing of survey especially for malaria and Schistosomiasis mekongi, thus, the Committee is recommended to improve this situation for smooth implementation of ethical reviewing.

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. At the initiative of the JICA long-term expert (NCGM researcher) stationed in the IPL, the liaison and coordination of the research collaboration amongst the Japanese research institutes such as the UT, the UR, the TMDU and the Juntendo University. Meanwhile, the project coordinator has changed approximately one year before the end of the project period; nonetheless, the coordination work was properly taken over to the successor. Thus, the liaison and coordination amongst the whole players have adequately been continued throughout the project t period.

##### 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. Some of the instruments provided by the Project is also used by other laboratories as joint IPL instruments. In addition, other laboratory staff are allowed to use research instruments, devices and equipment in the Lao-Japan Parasitology Laboratory; further, JICA experts sometimes

provide instruction on the usage of the instruments on request. Thus, the instruments and equipment provided for the Project are effectively utilized not only in the Project but also in the research activities of all IPL laboratories.

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

A total of five (5) Lao young researchers were dispatched to the Japanese research institutes for short-term training (4 in the NCGM and 1 in the UR). 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. Another one (1) staff of the Lao TPHI was given the master's degree by the UR in October 2017, and returned to her original Institute. 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 basic training of the theory and practice in parasitic disease diagnosis based on the recognition of the necessity to capacity enhancement of such personnel. The Project, from the next year of 2016, commenced the annual refresher training for the said health personnel, and the trainings are expected to sustain by the joint efforts of the NCGM and the IPL even following the project period. The Terminal Evaluation 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 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 with WHO and other partner organization in a proactive manner.

As a result, the Project assisted the MOH, with the support of WHO, to perform the joint national prevalence survey for Schistosomiasis mekongi in animals with the Ministry of Agriculture and Forestry, by providing testing services using the DNA detection method. The Project received financial support for the implementation of the survey, that is, acquired valuable epidemiological data of the infection rate of the disease in animals with no use of project budget. It is notable that the Project had gained an experience of collaborative activity with the Ministry of Agriculture and Forestry; therefore, it is anticipated that this kind of cross-sectoral activities become widely be done hereafter.

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, *Savannakhet* province and *Champasak* province in 2015. 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 have 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 to surely treat sub-microscopic and sub-RDT malaria patients as well as asymptomatic malaria carriers. However, in the SMPEs where the *Loopamp<sup>TM</sup>* were introduced at the provincial level, the sufficient number of tests performed by the kit could not be gathered for various reasons. Under the support of the *Eiken Chemical Co. Ltd.*, five (5) additional LAMP detectors are planned to be introduced to the DHOs in the endemic areas by the time of project closure, and cases will continuously be accumulated even after the project period and research activities related to asymptomatic malaria carriers will be advanced.

#### 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 Terminal Evaluation. This has enhanced the effectiveness of the Project from the aspect that the samples were efficiently collected.

As mentioned above, the Project has been advancing its activities in cooperation with various partner organizations, including the MOH, WHO, and the Ministry of Agriculture and Forestry in an efficient way.

#### 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 IPL had been asking the relevant authorities such as the MOH and the Ministry of Finance for improvement, and the Mid-term Review mission also acknowledged this issue at the time of the Mid-term Review and provided a recommendation toward the said ministries to improve it; however, this situation has remained unchanged even at the time of the Terminal Evaluation. 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. As has been described, the IPL Lao-Japan Parasitology Laboratory has been supplying the scientific evidences, which are useful to the implementation of the infectious disease control in the Lao PDR; thus, the IPL is recognized as a part of its implementation system. That is to say, the collaborative research in the IPL can be synonymized with the direct and/or indirect implementation of a part of national activities for the infectious disease countermeasures. Therefore, it is highly recommended for the for the relevant ministries such as the MOH and the

#### 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

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*”.

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, and it is deemed that the capacity of those researchers has significantly been enhanced in comparison with that in the beginning of the Project. Moreover, the Laotian young researchers in the IPL sometimes accompanied the JICA long-term expert (NCGM researcher) to attend the various meeting opportunities at the national level, and experienced and learned the theory and practice of the infectious disease control as well as the practical application of research outcomes to the society. Having said that, it is recognized that they are still young researcher and less experienced to run and to maintain or even enhance the research capacity of the IPL Parasitology Laboratory by themselves; from the project-designing stage, it had not been anticipated to hand over the project research to the Laotian staff in the IPL Lao-Japan Parasitology Laboratory. Further, as has been mentioned, the IPL Lao-Japan laboratory is already regarded as a part of the implementation system of the infectious control in the Lao PDR, and the NCGM is decided to sustain the collaborative research in the IPL even following the termination of the Project; therefore, it is highly expected that the research activities will further be enhanced and expanded hereafter on the project’s research outcomes and human resource development as a strong steppingstone.

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 Lao TPHI. 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 Terminal Evaluation, that the efforts to nurture Lao researchers will be continuing with a long-range point of view.

##### 2) Other Positive Impacts

- ① The efforts for the acquisition of the prequalification for the LAMP-based DNA detection method for the diagnosis of malaria through the collaboration between the NCGM and the *Eiken Chemical Co., Ltd.*

The NCGM is supposed to continue to accumulate laboratory testing cases using "*Loopamp™* MALARIA Pan/Pf Detection Kit" in the Lao PDR even after the completion of the Project. While this kit has enabled the detection of "*any of malaria*" and "*Falciparum malaria*", the *Eiken Chemical Co., Ltd.* has recently developed a kit that enables the detection of "*Vivax malaria*", which is prevalent in Southeast Asia. Given that these are to be put into practical use, patients with sub-microscopic and sub-RDT malaria can be appropriately led to malaria chemotherapy. The *Eiken Chemical Co., Ltd.* collaborates with the NCGM to verify the clinical performance of the kit by analyzing the results in the Lao PDR in conjunction with that of another collaborative research in Thailand. The kit is expected to be approved by the Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA) in Japan first, subsequently the company will submit an application for the prequalification by the WHO. The Japanese chief advisor of the Project (NCGM researcher) has already commenced concrete preparations such as having the consultation opportunity with the WHO staff in charge of prequalification.

Given that the kit were pre-qualified by WHO in the future and then is expected to be sold in many regions in the world, the testing cost will greatly be reduced; consequently, the kit will contribute significantly to the detection of patients with sub-microscopic and sub-RDT malaria and even asymptomatic malaria carriers worldwide.

Meanwhile, the SMPEs of the three provinces, in which LAMP-based DNA detection methods for malaria diagnosis were introduced, are located far from the rural areas where malaria incidences frequently occur, and it is not utilized as frequently as originally assumed, since the local health professionals were not well-informed. Hereafter, another five LAMP detectors will be introduced to health facilities in the endemic areas with the cooperation of *Eiken Chemical Co., Ltd.*, but at the time of introduction, it is necessary that the Project should put efforts to publicize the performance and utilization of the kit to the local stakeholders; at the same time, to introduce the practical operational procedures of the testing services, such as algorithms for selecting eligible patients for genetic diagnosis by LAMP method and specimen transfer method, etc. On the other hand, it was confirmed that LAMP reagents under storage can easily deteriorate with moisture, enough to affect the measurement results as false positive, in usual environment of laboratories in the Lao PDR. Since LAMP-based malaria DNA detection methods are expected to be used in hot and humid malaria-endemic areas such as Southeast Asia and Africa, it is recommended that improvement of the product be carried out, such as individual packaging of reagents, by the time of application for the pre-qualification by WHO.

- ② Cooperative research with the *neopharma Japan Co., Ltd.* for research on antimalarial Activity of a substance

The NCGM has commenced the cooperative research on the antimalarial activity of 5-aminolevulinic acid (5-ALA) with a foreign-affiliated Japanese enterprise of the *neopharma Japan Co, Ltd.* Although 5-ALA has been launched as a health supplement in Japan, it is expected to have the potential to promote disinfestation of malaria parasites in asymptomatic malaria carriers. In the Lao PDR, those who lives in malaria-endemic areas will be given supplements for a period of time to investigate their effects on malaria plasmodium.





This joint research will be advanced on the basis of the research findings and outcomes obtained through the Project and strong cooperation with related organizations in the Lao PDR, so it can be recognized as a positive impact of the Project.

- ③ Collaboration with the MOH and the Ministry of Agriculture and Forestry through the prevalence surveys on Schistosomiasis mekongi and the development to the "One-Health" approach.

As mentioned in the "Efficiency" section, the MOH, supported by WHO, carried out field surveys on the infection rate of animals with Schistosomiasis mekongi in 2018, in collaboration with the Ministry of Agriculture and Forestry, and the Project was responsible for testing blood and feces of animals with LAMP-based DNA detection method. This has led to a joint achievement as a result of the collaboration of the health sector such as the MOH and IPL with the animal sector such as the Ministry of Agriculture and Forestry. Approximately half of the infectious diseases are considered to be zoonoses; thus, it is necessary to promote the "One Health" approach under the multisectoral cooperation for better control of parasitosis such as the Schistosomiasis mekongi.

The NCLE, of which vice president is a cooperation member of the Project, emphasizes the significance of those collaboration with the animal centers; accordingly, signed a memorandum of understanding (MOU) on the official collaboration with the National Animal Health Laboratory, the Ministry of Agriculture and Forestry. At the superior levels, the MOU have been exchanged between the Department of DCDC, the MOH and the Department of Livestock and Fisheries, the Ministry of Agriculture and Forestry. The vice director of the NCLE recommended that the IPL also participate in this collaboration. Given that these collaborations are strengthened, they could contribute further to the countermeasure of infectious diseases as a platform of the "One Health" approaches in the Lao PDR.

- ④ Investigation on the novel combination therapy of anti-malarial medicines based on the research outcomes of the Project

The Project has been monitoring the frequency and spread of artemisinin-resistant malaria in the Lao PDR using molecular epidemiological methods, and the results have also been shared with the Lao MOH, WHO and other partner organizations. Based on the information from the Project and that from LOMWRU, the Lao MOH is implementing a trial in the southern province of the Lao PDR on the possibility of introducing alternative combinations of anti-malarial medicines (pyronaridine +artesunate, artesunate+mefloquine and dihydroartemisinin +piperazine) that can replace the WHO standard malaria drug combination, i.e., Coartem<sup>®</sup> (Artemether +Lumefantrine).

Thus, the research achievements of the Project are considered to have contributed to the initiatives of the MOH and WHO to optimize the malaria chemotherapy in the Lao PDR, simultaneously, this can be recognized as a positive impact of the Project.

- ⑤ 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 2<sup>nd</sup> phase.

Moreover, 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.

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.

⑥ 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 from 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. Further, the Project has been receiving many “study tours” from Japanese universities such as the Osaka University, the International University of Health and Welfare, the Keio University and so on. 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 Terminal Evaluation.

#### 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.

##### 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.

The Japanese research organizations are anticipated to continue the joint research at the IPL even following May 2019 when the cooperation period is over. Effective infectious disease countermeasures have been implemented through various collaborations between research institutes and the governmental organizations. However, it is desirable that the MOH and other related organizations will provide more support to the implementation of joint research and the utilization of research findings and outcomes for policymaking, implementing countermeasures, etc. in the Lao PDR, even after the completion of the project period.

On the other hand, as it was also mentioned in the "Impact" section, it is necessary, the collaborations across the sectors should be promoted further in carrying out the consorted efforts for infectious disease countermeasures, not only amongst research institutes but also with administrative organizations, which are regarded as the users of the research findings and outcomes. Moreover, it is deemed to be urgent for establishing a platform for that purpose. Individual collaboration between research institutes has been conducted on a single occasion until now, but it is necessary for related ministries and agencies to strategically develop a platform to promote the "One Health" approach.

##### 2) Financial Aspects

As has been shown, NCGM has decided to continue the joint research at the IPL even after the end of the project period, by utilizing financial support from Japanese private companies as well as by acquiring the competitive research funds in Japan. The IPL also has commenced two projects, entitled as "Arboshield Project" and "BioLao Project", financially-supported by the US Foundation, and some of these budgets have become available in all IPL laboratories since July 2018. Specifically, \$1,000 per month are provided for each IPL laboratory for the purchase of experimental consumables and is expected to continue for two years. Accordingly, the budget for maintaining collaborative research at the IPL is considered to be secured for the time being after the project period ended.

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. Given that the capacity enhancement of

the Lao researchers were continued through the collaborative research with domestic and international partners, it can be 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.

### 3) Technical Aspects

As mentioned above, the NCGM has decided to continue collaborative research at IPL after the completion of the Project. The research and testing technologies provided through the Project will continue to remain in the IPL, and research results and technical advice will also be shared with relevant organizations engaged in infectious diseases control in the Lao PDR in a sustainable manner.

As was described in the "*Effectiveness*" section, the Laotian researchers have enhanced their capacity in comparison with that at the beginning of the Project, however, the efforts for capacity development should be continued with a long-term point of view. The Japanese research institutes are supposed 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.

### 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 Terminal Evaluation Mission confirmed that "*Relevance*" of the Project has highly been maintained, and that "*Effectiveness*", "*Efficiency*", and "*Sustainability*" were also generally high. The Project has also created a number of positive "*Impact*" as of the time of the Terminal Evaluation; thus, it is expected to contribute significantly to the countermeasure of malaria and parasitic diseases in Lao PDR in future.

In particular, the Project has established the cooperative relationships with relevant ministries, national agencies and other partner organizations by providing scientific evidences and technical advices as well as by assisting the national surveys, which are beneficially utilized for the infectious disease countermeasures in the Lao PDR. Under such liaison and cooperation, the Project also proceeded various project activities to date. As the result, various scientific research results have been created, and it has directly contributed to the infectious disease countermeasure in the Lao PDR.

With regard to malaria, as a result of the establishment of cooperative relationship with local health professionals through the provision of technical training to them, the Project obtained sufficient number of clinical samples from malaria suspected patients and analyzed them proactively; consequently, the Project revealed that the present state of asymptomatic malaria carriers, which is recently regarded to be important for strengthening the initiatives for malaria elimination. In

addition, the important research findings and outcomes on the emergence and diffusion of the drug-resistant malaria are gained, which had impacted to the commencement of novel international research collaboration (supervision) for preventing from crossing border.

On the other hand, concerning Schistosomiasis mekongi and Opisthorchiasis viverrini research, the Project had developed DNA detection methods based on the novel gene amplification technology, and the developing work for the methods has largely been completed from a technical standpoint within the cooperative period. These DNA detection methods are established as diagnostic methods in the IPL, enabling the IPL to function as a reference laboratory for these diseases, and are also used for the national prevalence surveys conducted by the MOH.

These research findings and outcomes are disseminated to the world through the publications of research articles in international journals, and many presentations has also been made at academic conferences. Thus, the achievement of the Project from an academic standpoint is very large. Besides, by taking the opportunities of field sampling activities, the Project has been providing health education regarding the prevention of infectious diseases geared to community residents jointly with the health professionals, resulted in the steady contribution to the community health. The Project has also consistently addressed the fostering of Laotian young researchers through its research activities, and the staff of the IPL Lao-Japan Parasitology Laboratory has reached the level where they can make oral presentations in English at domestic and international conferences at the time of the Terminal Evaluation. Though further self-study and continuation of guidance from Japanese researchers are also required to stand alone as researchers, it is deemed that the Project has made a significant achievement from the viewpoint of JICA's technical cooperation.

Even after the completion of the Project, Japanese research institutes are supposed to continue international joint research at the IPL by utilizing research funding from companies and scientific research grants in Japan. The Japanese research institutes will move on to the preparations for the acquisition of WHO pre-certification for the LAMP-based malaria DNA diagnostic kit, detailed research on asymptomatic malaria carriers, and further, novel research on the substance with antimalarial activity. Those international collaborative researches are also anticipated to continuously contribute not only to scientific research outcomes but also to the countermeasure of infectious diseases in the Lao PDR hereafter.

## CHAPTER 5 RECOMMENDATIONS

The Terminal Evaluation Team made the following recommendations based on the result of the Review.

### (1) To the Project

#### 1) Promotion of the "One-Health" approach

The Project had gained an experience of inter-sector collaboration with the Ministry of Agriculture and Forestry, such as the implementation of the joint survey. From the aspect of the significance of the collaboration with other organizations, it is anticipated that this kind of cross-sectoral activities such as the regular cross-sectoral meeting become widely be done, in order to promote the "One-Health" approach.

#### 2) The effort to explanation of the practical operational procedures at the time of introduction of LAMP detectors

The Project is planning to introduce another five LAMP detectors to district health facilities in the areas of high malaria endemicity, and continue accumulating clinical cases even following the completion of the Project. At the time of introduction, it is necessary that the Project should put efforts to publicize the performance and utilization of the kit to the local stakeholders; at the same time, to introduce the practical operational procedures of the testing services, such as algorithms for selecting eligible patients for genetic diagnosis by LAMP method and specimen transfer method, etc.

Meanwhile, the Project experienced that LAMP reagents under storage could easily deteriorate with moisture, enough to affect the measurement results as false positive, in usual environment of laboratories in the Lao PDR, and the problem can happen in hot and humid malaria-endemic areas such as Southeast Asia and Africa where the LAMP-based malaria DNA detection methods were expected to be used. Though the current reagent packaging would not cause any problem of the testing results in the usage of mass survey of asymptomatic malaria carriers, it is recommended for the Project, jointly with the *Eiken* Chemical Co., Ltd., to resolve the problem by improving the "Product", such as individual packaging of reagents, in consideration the usage in practical clinical settings.

### (2) To the MOH

#### 1) Improvement of internal quality control system in local clinical laboratories

Capacity of local laboratory staff has significantly been enhanced through the implementation of the Project, it is confirmed that a problem concerning the quality control toward laboratory testing results from the LAMP-based DNA detection method for diagnosing malaria, introduced by the support of the Project. In particular, the Project, with the support of the *Eiken* Chemical Co., Ltd., developed and introduced the SOP for the said testing by providing the staff with its training; nevertheless, it is found that there is no monitoring mechanism for the compliance of the SOP. This is regarded not only the issue of the Project but also a challenge of the clinical laboratories in whole country; therefore, it is recommended that the NCLE, in charge of laboratory quality control and assurance, will take action for the construction and even improvement of the Internal Quality Control (IQC) mechanism immediately.

#### 2) Coordination with related development partners for effective trainings

Regarding the training on communicable diseases for the lab staffs and officers in rural area which was provided by the Project, DCDC and other relevant departments within MOH should continue to work closely and coordinate with WHO and other partners which are conducting various trainings, in order to make them more effective without duplication.

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

When reagents, 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.

Having said that, it is acknowledged that this issue cannot be solved by the MOH alone but is regarded as a complex issue involving the Ministry of Finance, the Ministry of Planning and Investment, and other relevant agencies. Not only all laboratories in the IPL but also any research institutes engaged in the infectious disease control in the Lao PDR are being affected by the issue. In other words, the relevant ministries and agencies should acknowledge the negative impact of the issue on infectious disease countermeasures in the Lao PDR, and are expected to make further efforts to resolve the issue, at the initiative of the MOH, by convening inter-ministerial consultations and so on.

- 4) Smooth implementation of ethical review for the research proposal


The Project implemented researches following the acquisition of ethical clearance by the relevant authorities concerned both in Japan and the Lao PDR. Accordingly, the Project submitted research proposals to the National Ethics Committee for Health Research properly; however, it took, in many time, more-than-expected time for the Project to receive the results of the review by the Committee. The Project sometimes have to put a special consideration for the timing of survey especially for malaria and Schistosomiasis mekongi, thus, the Committee is recommended to improve this situation for smooth implementation of ethical reviewing.

- 5) Further cooperation to promote international joint research work in IPL with Japanese research institutes

The Japanese research organizations such as NCGM are anticipated to continue the joint research at the IPL even following May 2019 when the cooperation period is over. MOH should provide more support to the implementation of joint research and the utilization of research findings and outcomes for policymaking, implementing countermeasures, etc. in the Lao PDR, because of the importance of IPL as the national referral laboratory for the investigation of parasitic diseases and for provision of evidences for policy making and as a cooperation agency for national surveys. It is expected that the MOH will involve Lao and Japanese researchers to participate in conferences on countermeasures for infectious diseases and promote the utilization of research findings more actively.

### (3) To the Lao Young Researchers

- 1) 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 continue self-help efforts even following the termination of the Project further, such as reading more English papers, holding journal club, capturing novel

scientific information, obtaining Ph.D. degree in the future, and increasing other options for capacity enhancement.

END







| Activities  | Japan                  | Input   | Lao PDR   |
|---|------------------------|---|---|
| 1. Move convention and accurate methods (PCR method, LAMP method, etc.) for the diagnosis of malaria, schistosomiasis mekong and opisthorchiasis viverrini are developed and utilized.  |                        |   | 1. Research scientists and staff on malaria, schistosomiasis mekong and opisthorchiasis viverrini |
| 1-1 To establish the research environment of the PI.  | 1. Chief Advisor       |   | 2. Research staff at field stations in pilot provinces.   |
| 1-2-1 To improve the procedure for collecting samples of patients ( <i>Plasmodium</i> from blood and eggs from feces).  | 2. Project Coordinator |   | 3. Office space and laboratory space at the PI.   |
| 1-2-2 To separate the parasites and extract the DNAs from samples of 1,2,1.   |                        | 3. Experts on malaria, schistosomiasis mekong and opisthorchiasis viverrini.            | 4. Existing equipment at PI, and field stations.  |
| 1-3-1 To collect snails and fish (intermediate hosts) which are responsible for transmitting schistosomiasis and opisthorchiasis.   |                        | 4. Training in Japan for malaria, schistosomiasis mekong and opisthorchiasis viverrini. | 5. Available data, information and specimens related to the project.                              |
| 1-3-2 To separate parasites and extract DNAs from snails and fish (intermediate hosts), which are responsible for transmitting schistosomiasis and opisthorchiasis.   |                        | 5. Equipment for research and project activities as shown in the equipment list.        | 6. Others   |
| 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 epidemiological situation of pathogen and vector of malaria, schistosomiasis mekong and opisthorchiasis viverrini is monitored.   |                        |   |   |
| 2-1 To collect and analyze the existing data of the Ministry of Health (on malaria, schistosomiasis mekong 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 analysis of collected parasites by utilizing molecular phylogenetic analyses.   |                        |   |   |
| 2-3-2 To temporarily 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 model-based approach). |                        |   |   |
| 2-4-1 To conduct the situation of feeding and spawning schistosomes molecular epidemiologically with the existing data from Laos, Cambodia, Vietnam and to report outcomes.   |                        |   |   |
| 2-4-2 To conduct genetic epidemiological survey of human <i>Plasmodium falciparum</i> infection.  |                        |   |   |
| 2-4-3 To apply Bayesian filter for analyzing <i>CEPT</i> deficiency in endemic population.  |                        |   |   |
| 3. Mechanism of emergence and expansion of the drug resistant malaria is analyzed.  |                        |   |   |
| 3-1 To analyze the mutation of the chloroquine resistance gene ( <i>cfrp</i> ), the artemisinin resistant gene ( <i>pfpr</i> ) and imidazo acid and their adjacent microsatellite markers flanking the gene.  |                        |   |   |
| 3-2 To analyze the spread of multiple 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 mekong and opisthorchiasis viverrini, education for people is strengthened and emergency 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 PI, 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 training for administrative officers from CHGF and Ministry of Health, and to promote their capacity of building health plans and strategies.  |                        |   |   |
| 5-5 To plan and host the training for administrative officers from CHGF and Ministry of Health, and to promote their capacity in the Lao National Health Research Forum to present the outputs of research activities.  |                        |   |   |

| Pre-Conditions  |
|---|
| 1. PI, continuously functions as a research institution.            |
| 2. Lao side allocates necessary personnel for the research project. |
| 3. Related institutions are coordinated.                            |

|        |     | JICA   |   | AMED   |
|--------|-----|--|---|--|
|        |     | Dr. Kaname KANAI (Team Leader)<br>Ms. Yukari MAEDA<br>(Cooperation Planning) | Dr. Youichi INOUE<br>JICA Consultant (Evaluation Analysis)  | Mr. Katsumi ISHII<br>(Planning and Evaluation) |
| 02-10  | Tue | P.M.   | 19:45 Arrival at VTE (TG574)  |  |
| 3 Oct  | Wed | A.M.   | 09:30 Interview with Dr. Moritoshi Iwagami, Mr. Yasumasa Nagaoka @ IPL  |  |
|        |     | P.M.   | 14:00 Dr. Sengchanh Kounavong, Director Lao TPHI<br>15:00 Dr. Noknoy (Phoyphaylinh Prasayasith), Junior Scientist and Ms. Intong, IPL<br>16:00 Dr. Elodie, Scientist, IPL   |  |
| 4 Oct  | Thu | A.M.   | 09:00 - 10:00 Dr. Inthavong Noulhak, Lao TPHI   |  |
|        |     | P.M.   | 14:00 - 15:00 Dr. Thippavanh Chanthapaseuth, WHO @ WHO  |  |
| 5 Oct  | Fri | A.M.   | 10:00 Dr. Phoeppadith Xangsayath, Deputy Director, NCLE   |  |
|        |     | P.M.   | 14:00 - 15:00 Dr. Matthew Shortus, Dr. Chitsavang Chanthavisouk, WHO @ WHO  |  |
| 6 Oct  | Sat |  | Documentation Work  |  |
| 7 Oct  | Sun |  | Documentation Work  |  |
| 8 Oct  | Mon | A.M.   | 09:00 Ms. Vitayphone, Provincial Health Department, Savannakhet by Telephone<br>11:00 Mr. Masaki Aoki, JICA Office @IPL   |  |
|        |     | P.M.   | 13:30 Dr. Hironori Obara, JICA, Policy Advisor, MOH<br>15:30 Dr. Hiroyuki Asechi, EOJ   |  |
| 9 Oct  | Tue | A.M.   | 10:00 Dr. Chansamone Thanabousy, Champasak Province by Telephone<br>11:00 Interview with Dr. Virasack, PHO LPB [by Telephone]   |  |
|        |     | P.M.   | 13:00 Dr. Masamine Jimba, Tokyo Univ.<br>15:00 Dr. Vonethalom Thongpaseuth, Deputy Chief of Labo and Treatment Unit, CMPE   |  |
| 10 Oct | Wed | A.M.   | 09:00 Dr. Sompheu Sayasone, head of International Program for Health, Lao TPHI @Lao TPHI<br>10:30 Interview with Dr. Boonthavy, Director Khong DHO [by Telephone]<br>11:30 Ms. Pheovaly Soundala (Nat), Ms. Soncimmaly Sannikone (Sone), Technical, Lao-Japan Lab |  |
|        |     | P.M.   | 16:00 Dr. Sebastien Marcombe, Scientist, IPL @IPL   |  |
| 11 Oct | Thu | A.M.   | Documentation Work, Interview w/ stakeholders (as needed basis)   |  |
|        |     | P.M.   | Dr. Paul Brey @IPL  |  |
| 12 Oct | Fri | A.M.   | Documentation Work, Interview w/ stakeholders (as needed basis)   |  |
|        |     | P.M.   | Documentation Work, Interview w/ stakeholders (as needed basis)   |  |
| 13 Oct | Sat |  | Documentation Work  |  |
| 14 Oct | Sun | A.M.   | Documentation Work  |  |
|        |     | P.M.   | Arrival at Vientiane  | Arrival at Vientiane                           |
| 15 Oct | Mon | A.M.   | 8:30 Dr. Paul Brey, Director, IPL<br>11:00 Interview with Dr. Phonepadith Khatignavong (Poth) and Dr. Sengdeuane Keomalaphet (Noi), Junior Scientist, Lao-Japan Lab   |  |
|        |     | P.M.   | 14:00-15:30 Dr. Bouasy, Project Director @CMPE<br>16:00 - 17:00 Meeting with SATREPS researcher from Japan @JICA<br>Dinner Meeting (Mission member, NCGM, JICA, SATREPS, etc.)  |  |
| 16 Oct | Tue | A.M.   | NHRF Opening  |  |
|        |     | P.M.   | 13:00-15:00 Scientific Meeting (NHRF SATREPS session)   |  |
| 17 Oct | Wed | A.M.   | First Internal Meeting (JICA, AMED) for the Terminal Evaluation Report with first draft, Briefing drafting report and Minutes of Meetings (M/M)   |  |
|        |     | P.M.   |   |  |
| 18 Oct | Thu | A.M.   | 09:00-11:00 Discussion on the draft version of the Terminal Evaluation Report with counterparts, and the M/M  |  |
|        |     | P.M.   | Second Internal Meeting (JICA, AMED) for the Terminal Evaluation Report and the M/M   |  |
| 19 Oct | Fri | A.M.   | 09:00-10:00 Signing of M/M  |  |
|        |     | P.M.   | 14:00-15:00 Report to the Ambassador of Japan in the LAO PDR<br>20:00 and 20:30 Departure from Vientiane  |  |
| 20 Oct | Sat | A.M.   | Arrival at Japan  |  |

Verification of Implementation Process/Terminal Evaluation on 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

| Sub-item                                  | Evaluation/Classification   |   | Criteria  | Necessary data and Information                                 | Data Source   | Means of Verification                               |
|---|---|---|---|--|---|---|
|   | Major   | Small   |   |  |   |   |
| 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)<br>② Comprehensive analysis | ① Achievements of OVIs<br>② Views of related players           | ① Project documents<br>② JICA Experts, Laothian counterpart personnel (C/P) | ① Document review<br>② Questionnaire<br>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<br>② Views of related players           | ① Project documents<br>② JICA Experts, C/P                                  | ① Document review<br>② Questionnaire<br>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<br>② Views of related players           | ① Project documents<br>② JICA Experts, C/P                                  | ① Document review<br>② Questionnaire<br>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<br>② Views of related players           | ① Project documents<br>② JICA Experts, C/P                                  | ① Document review<br>② Questionnaire<br>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<br>② Views of related players           | ① Project documents<br>② JICA Experts, C/P                                  | ① Document review<br>② Questionnaire<br>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<br>② Views of related players           | ① Project documents<br>② JICA Experts, C/P                                  | ① Document review<br>② Questionnaire<br>③ Interview |
|   | Inputs from the Japan Side  | Whether JICA Experts were dispatched as scheduled.  | Comparison of plan with actual result   | Results of Input   | ① Input records<br>② Project reports  | ① Document review                                   |
|   |   | Whether equipment for project activities was provided as planned.   |   | Results of Input (incl. Information for status of utilization) | ① Input records<br>② Project reports  | ① Document review<br>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<br>② Project reports  | ① Document review                                   |
|   |   | Whether local cost from JICA side were implemented as scheduled.  |   | Budget and implementation result                               | ① Input records<br>② Project reports  | ① Document review                                   |
| Inputs from the Laothian side             | Whether C/Ps were appropriately allocated enough to implement project activities. |   | ① Achievement of Input players<br>② Views of related players                                    | ① Input records<br>② JICA Experts, C/P                         | ① Document review<br>② Interview  |   |
|   | Whether office space for JICA experts was provided.                               |   | Achievement of Input  | ① Input records<br>② JICA Experts, C/P                         | ① Document review<br>② Interview  |   |
|   | Whether local cost from the Laothian side were implemented appropriately.         |   | ① Achievement of Input players<br>② Views of related players                                    | ① Input records<br>② JICA Experts, C/P                         | ① Document review<br>② Interview  |   |
| 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<br>② Questionnaire  |   |

Verification of Implementation Process) Terminal Evaluation on 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


| Evaluation Item                    | Evaluation Classification                                     |   | Criteria | Necessary data and Information                           | Data Source  | Means of Verification                               |
|------------------------------------|---|---|----------|--|--|---|
|                                    | Major   | Small   |          |  |  |   |
| Technical transfer                 |   | 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<br>② Questionnaire<br>③ Interview |
|                                    |   | Whether methods and/or approaches of technical transfer were appropriate.   |          | Methods and contents of technical transfer               | ① Project reports<br>② JICA Experts, C/P<br>③ JICA Experts | ① Document review<br>② Interview<br>③ Questionnaire |
| 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<br>② Feedback system        | ① Project reports<br>② JICA Experts, C/P<br>③ JICA Experts | ① Document review<br>② Questionnaire<br>③ Interview |
|                                    |   | How the decision-making process for modification of the project activities, assignment of personnel, etc. was.                            |          | Process for decision-making                              | ① Project reports<br>② Views of related players            | ① Document review<br>② Questionnaire<br>③ Interview |
| Ownership and Autonomy             |   | How the communication and cooperative relationship amongst players in the Project was.  |          | JCC and other meeting minutes                            | ① Project reports<br>② Views of related players            | ① Document review<br>② Questionnaire<br>③ Interview |
|                                    |   | Whether Project information was effectively shared.   |          | JCC and other meeting minutes                            | ① Project reports<br>② Views of related players            | ① Document review<br>② Questionnaire<br>③ Interview |
| Problems on implementation process |   | How ownership and autonomy of implementing bodies including C/Ps and beneficiaries were.  |          | Contribution, attitude, etc. for the project activities. | ① Project reports<br>② Views of related players            | ① Document review<br>② Questionnaire<br>③ Interview |
|                                    |   | Whether there were obstacles or problems for the implementation of the project activities.  |          | Contributing and inhibitory factors                      | ① Project reports<br>② Views of related players            | ① Document review<br>② Questionnaire<br>③ Interview |
| To the Project                     |   | 1) Standardization of testing methods developed by the Project  |          | Countermeasures taken by the Project and current status  | Information from parties and/or persons concerned          | ① Questionnaire<br>② Interview                      |
|                                    |   | 2) Application of the LAMP-based DNA detection method for the malaria diagnosis in the Lao PDR  |          | Countermeasures taken by the Project and current status  | Information from parties and/or persons concerned          | ① Questionnaire<br>② Interview                      |
|                                    |   | 3) Establishment of active surveillance system for the monitoring of malaria asymptomatic carriers and drug resistant gene mutation       |          | Countermeasures taken by the Project and current status  | Information from parties and/or persons concerned          | ① Questionnaire<br>② Interview                      |
|                                    |   | 4) Intervention for the control of <i>Opisthorchiasis viverrini</i>   |          | Countermeasures taken by the Project and current status  | Information from parties and/or persons concerned          | ① Questionnaire<br>② Interview                      |
|                                    |   | 5) Utilization of the LAMP-based DNA detection methods for diagnosing <i>Schistosomiasis mekongi</i> and <i>Opisthorchiasis viverrini</i> |          | Countermeasures taken by the Project and current status  | Information from parties and/or persons concerned          | ① Questionnaire<br>② Interview                      |
|                                    |   | 6) Advocacy and PR activities of the Project  |          | Countermeasures taken by the Project and current status  | Information from parties and/or persons concerned          | ① Questionnaire<br>② Interview                      |
|                                    |   | 7) Capacity development of the Lao young researchers  |          | Countermeasures taken by the Project and current status  | Information from parties and/or persons concerned          | ① Questionnaire<br>② Interview                      |
|                                    | Follow-up status for the indicated matters at Mid-term Review |   |          |  |  |   |

| [Verification of Implementation Process] Terminal Evaluation on 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 |                              | Evaluation Classification  |          | Necessary data and Information                          |  | Data Source                                       |  | Means of Verification          |  |
|---|------------------------------|--|----------|---|--|---|--|--------------------------------|--|
| Sub-Item  | Major                        | Small  | Criteria | Necessary data and Information                          |  | Data Source                                       |  | Means of Verification          |  |
|   |                              | 8) Revision of the PDM   |          | Countermeasures taken by the Project and current status |  | Information from parties and/or persons concerned |  | ① Questionnaire<br>② Interview |  |
|   | To the MOH                   | 1) Improvement of the situation regarding the certification of tax exemption for research instruments and equipment.<br>2) Translation and/or application of research findings and outcomes into policies and/or countermeasures |          | Countermeasures taken by the Project and current status |  | Information from parties and/or persons concerned |  | ① Questionnaire<br>② Interview |  |
|   | To the Lao Young Researchers | 1) Further self-help endeavor to enhance international competitiveness   |          | Countermeasures taken by the Project and current status |  | Information from parties and/or persons concerned |  | ① Questionnaire<br>② Interview |  |

[Five Evaluation Criteria] Terminal Evaluation on 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

| Five Evaluation Criteria | Major     |   | Middle  |   | Minor   |   | Criteria   | Necessary data and Information                      | Data Source | Means of Verification |
|--------------------------|-----------|---|---|---|---|---|--|---|-------------|-----------------------|
|                          | Priority  | Relevance   | Consistency of the Project Purpose with Lao PDR policies with regard to health (infectious disease control) and/or the development of science and technology. | Consistency with Japan's ODA policies and JICA's aid policies   | Relativity with prioritized area in Japan's ODA policies      | Comparison with Lao PDR policies                      |  |   |             |                       |
| Priority                 | Relevance | Consistency of the Project Purpose with Lao PDR policies with regard to health (infectious disease control) and/or the development of science and technology. | Consistency with Japan's ODA policies and JICA's aid policies   | Relativity with prioritized area in Japan's ODA policies  | Comparison with Lao PDR policies                              | Related policies in Lao PDR                           | ① Document for related national policies such as the Ministry of Health (MOH), the Ministry of Science & Technology (MOST) and the Ministry of Education and Sports (MOES)<br>② Country Assistance Policy for the Lao PDR (April 2012)<br>③ Basic Design for Peace and Health (Global Health Cooperation) (September 2015) | ① Document review<br>② Interview<br>③ Questionnaire |             |                       |
|                          |           |   | Relevance of target group   | Consistency of needs of target group with the Project Purpose   | Comparison with Lao PDR health related policies               | Place of health assistance in the JICA's aid policies | ① Project documents<br>② JICA Experts, a medical attaché of the Embassy of Japan in the Lao PDR, C/P<br>③ Health statistics reports  | ① Document review<br>② Interview                    |             |                       |
| Priority                 | Relevance | Consistency of the Project Purpose with Lao PDR policies with regard to health (infectious disease control) and/or the development of science and technology. | Relevance of target group   | Consistency of needs of target group with the Project Purpose   | Comparison with Lao PDR health related policies               | Place of health assistance in the JICA's aid policies | ① Project documents<br>② JICA Experts, a medical attaché of the Embassy of Japan in the Lao PDR, C/P<br>③ Health statistics reports  | ① Document review<br>② Interview                    |             |                       |
|                          |           |   | Appropriateness of implementation method  | Appropriateness of research design (incl. target diseases) and approaches in the framework of SATREPS   | Consistency of needs of target group with the Project Purpose | Place of health assistance in the JICA's aid policies | ① Project documents<br>② JICA Experts, a medical attaché of the Embassy of Japan in the Lao PDR, C/P<br>③ Health statistics reports  | ① Document review<br>② Interview                    |             |                       |
| Priority                 | Relevance | Consistency of the Project Purpose with Lao PDR policies with regard to health (infectious disease control) and/or the development of science and technology. | Special consideration   | Special considerations for gender issues, environment, social grades, environment, ethnic groups, etc.  | Comparison with Lao PDR health related policies               | Place of health assistance in the JICA's aid policies | ① Project documents<br>② JICA Experts, C/P<br>③ JICA HQ and Lao Office   | ① Document review<br>② Interview<br>③ Questionnaire |             |                       |
|                          |           |   | Japan's technical superiority   | Japan's technical superiority   | Comparison with Lao PDR health related policies               | Place of health assistance in the JICA's aid policies | ① Project documents<br>② JICA Experts, C/P<br>③ JICA HQ and Lao Office   | ① Document review<br>② Interview<br>③ Questionnaire |             |                       |
| Priority                 | Relevance | Consistency of the Project Purpose with Lao PDR policies with regard to health (infectious disease control) and/or the development of science and technology. | Status of 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. | Comparison with Lao PDR health related policies               | Place of health assistance in the JICA's aid policies | ① Project documents<br>② JICA Experts, C/P   | ① Document review<br>② Interview                    |             |                       |

Five Evaluation Criteria] Terminal Evaluation on 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

| Criteria  | Evaluation Classification   |  | Criteria   | Necessary data and information   | Data Source  | Means of Verification  |
|---|---|--|--|--|--|--|
|   | Major   | Middle   |  |  |  |  |
|  |   | <p>&lt;Output 2&gt; 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.</p>   |  | <p>① Status of achievements of OVIs<br/>② Outputs other than the scope of the project activities</p>   | <p>① Project reports<br/>② JICA Experts, C/P</p>   | <p>① Document review<br/>② Interview<br/>③ Direct observation</p>  |
|   |   | <p>&lt;Output 3&gt; 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.</p>  |  | <p>① Status of achievements of OVIs<br/>② Outputs other than the scope of the project activities</p>   | <p>① Project reports<br/>② JICA Experts, C/P</p>   | <p>① Document review<br/>② Interview<br/>③ Direct observation</p>  |
|   |   | <p>&lt;Output 4&gt; 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.</p>  |  | <p>① Status of achievements of OVIs<br/>② Outputs other than the scope of the project activities</p>   | <p>① Project reports<br/>② JICA Experts, C/P</p>   | <p>① Document review<br/>② Interview<br/>③ Direct observation</p>  |
|   |   | <p>&lt;Output 5&gt; 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.</p>   |  | <p>① Status of achievements of OVIs<br/>② Outputs other than the scope of the project activities</p>   | <p>① Project reports<br/>② JICA Experts, C/P</p>   | <p>① Document review<br/>② Interview<br/>③ Direct observation</p>  |
|   | <p>Probability of the achievement of the Project Purpose</p>  |  | <p>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.</p> | Comprehensive judgment   | <p>① Status of achievements of OVIs<br/>② Outputs other than the scope of the project activities</p>   | <p>① Project reports<br/>② JICA Experts, C/P</p>   |
| <p>Cause-and-effect relationship</p>  | <p>Whether the Project Purpose was attained as a result of the achievements of Outputs</p>              | <p>Whether there was no logical error from the aspect of cause-and-effect relationship.</p>  | Verification of logical relationship   | <p>Verification by the Joint Evaluation Team</p>   | <p>① Project documents<br/>② JICA Experts, C/P</p>   | <p>① Document review<br/>② Questionnaire<br/>③ Interview</p>   |
| <p>Contributing and inhibitory factors</p>  | <p>Appropriateness of the important assumptions</p> <p>Whether important assumptions are fulfilled.</p> | <p>Whether there were any other effective approaches for the achievement of the Project Purpose</p> <p>Whether important assumptions are appropriate from aspects of current situation.</p> <p>Whether important assumptions are appropriate from aspects of current situation and logical relationship</p> <p>Confirmation of the current status of "Malaria and parasitic diseases control related policies are not altered drastically in Lao PDR".</p> <p>Confirmation of the current status of "Trained counterparts do not leave their position so as to affect the outputs of the Project".</p> | <p>Verification of implementation approaches</p> <p>Confirmation of current situation</p> <p>Verification of logical relationship</p>  | <p>① Verification by the Joint Evaluation Team</p> <p>② Views of related parties</p> <p>Verification by the Joint Evaluation Team</p> <p>Verification by the Joint Evaluation Team</p> <p>Records of communications and collaborations with the said external supporters</p> <p>Turnover rate of Laotian researchers</p> | <p>① Project documents<br/>② JICA Experts, C/P</p> <p>① Project documents<br/>② JICA Experts, C/P</p> <p>① Project documents<br/>② JICA Experts, C/P</p> <p>① Project documents<br/>② JICA Experts, C/P</p> <p>① Project documents<br/>② JICA Experts, C/P</p> <p>① Project documents<br/>② JICA Experts, C/P</p> <p>① Project documents<br/>② JICA Experts, C/P</p> | <p>① Document review<br/>② Questionnaire<br/>③ Interview</p> <p>① Document review<br/>② Questionnaire<br/>③ Interview</p> <p>① Document review<br/>② Questionnaire<br/>③ Interview</p> <p>① Document review<br/>② Questionnaire<br/>③ Interview</p> <p>① Document review<br/>② Questionnaire<br/>③ Interview</p> <p>① Document review<br/>② Questionnaire<br/>③ Interview</p> <p>① Document review<br/>② Questionnaire<br/>③ Interview</p> |



Five Evaluation Criteria] Terminal Evaluation on 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

| Five Criteria | Evaluation Classification   |  |   | Criteria   | Necessary data and information   | Data Source   | Means of Verification   |
|---------------|---|--|---|--|--|---|---|
|               | Major   | Middle   | Small   |  |  |   |   |
| Efficiency    | Time resource   | Other unexpected factors                                   | Whether Outputs were attained as scheduled.   |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Views of related players</li> <li>② Other expected and/or unexpected external factors</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① JICA Experts, C/P</li> <li>② Project documents</li> </ul>                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul>                               |
|               |   |  | Whether quality, quantity and timing of inputs were appropriate.  | Comparison of results and plan   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Record of dispatch of experts</li> <li>② Attitude and performance of experts</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Project documents</li> <li>② Views of related players</li> </ul>                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul>                               |
|               |   |  | Whether types, quantity and timing of installation were appropriate.  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Record of provision of the installed instruments, devices and equipment</li> <li>② Utilization status of the installed items</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Input records</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> </ul>                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Direct observation</li> <li>④ Interview</li> </ul> |
|               |   |  | 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.  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Acceptance of trainees</li> <li>② Views of related parties</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Input records</li> <li>② Trainees</li> <li>③ JICA Experts</li> </ul>               | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul>                               |
| Impact        | Probability of achievement of (envisaged) Overall Goals   | Collaboration with other resources                         | Whether timing, contents, duration follow-up of on-site trainings were appropriate.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Records of on-site trainings</li> <li>② Accomplishments of trainings</li> </ul>             | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Project documents</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul> |   |
|               |   |  | Whether the budget for local costs was appropriate.   | Local costs from the Japan side  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Input records</li> <li>② JICA Experts and C/P</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Interview</li> </ul>                                    |   |
|               |   |  | Whether allocation of Laotian C/Ps and budget for the Project were appropriate.   | Local costs from the Laotian side  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Input records</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul> |   |
|               |   |  | 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.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Project documents</li> <li>② JICA Experts</li> <li>③ The said other resources</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul> |   |
| Other impacts | Whether there are any positive and/or negative impacts confirmed and/or expected to be generated other than | Whether there were any contributing factors to efficiency. | Whether there were any contributing factors to efficiency.  | Views of related parties   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Project documents</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Interview</li> </ul>                                    |   |
|               |   |  | Whether there were any inhibitory factors to efficiency.  | Views of related parties   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Project documents</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Interview</li> </ul>                                    |   |
|               |   |  | (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  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Degree of achievement of the Project Purpose</li> <li>② Verification of Sustainability</li> </ul>                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Project documents</li> <li>② Views of related players</li> </ul>                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul>                               |
|               |   |  | (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  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Degree of achievement of the Project Purpose</li> <li>② Verification of Sustainability</li> </ul>                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Project documents</li> <li>② Views of related players</li> </ul>                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul>                               |
| Other impacts | Whether there are any positive and/or negative impacts confirmed and/or expected to be generated other than | Positive impacts   | Verification of Sustainability  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Project reports</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> <li>③ Views of related players</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul>  |   |   |
|               |   |  | Negative impacts  | Other necessary information  | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Project reports</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> <li>③ Views of related players</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire interview</li> <li>③ Interview</li> </ul> |   |

| [Five Evaluation Criteria] Terminal Evaluation on the Project for Development of Innovative Research Technique in Genete Epidemiology of Malaria and Other Parasitic Diseases in Lao PDR for Containment of Their Expanding Endemicity |   |   |  |   |   |
|--|---|---|--|---|---|
| Five Criteria  | Evaluation Classification   |   | Means of Verification  |   |   |
|  | Major   | Middle  |  |   |   |
| Sustainability   |   | Criteria  | Data Source  |   |   |
| Probability of maintaining the benefits derived from the Project   | Overall Goal  | 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.   | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Related authorities such as the MOH, the MOST and the MOES</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> <li>③ Views of related players</li> </ol>              | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire</li> <li>③ Interview</li> </ol>   |   |
|  | Political and institutional aspects   | Whether the budget for benefits derived from the Project will be maintained in the south regions.   | Laotian related policies and budget  | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Related authorities such as the MOH, the MOST and the MOES</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> <li>③ Views of related players</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire</li> <li>③ Interview</li> </ol> |
| Technical aspect   | Financial aspect  | Whether the budget and personnel for the enhancement of the benefit will be allocated.  | Laotian related policies and budget  | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Related authorities such as the MOH, the MOST and the MOES</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> <li>③ Views of related players</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire</li> <li>③ Interview</li> </ol> |
|  | Contributing and inhibitory factors   | Whether the research techniques provided by the Project will be maintained and enhanced autonomously.   | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Presence of maintenance mechanism for of technical benefits</li> <li>② Opportunities to update technical skills</li> </ol> Views of related players | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Project reports</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> <li>③ Views of related players</li> </ol>  | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire</li> <li>③ Interview</li> </ol> |
| Others   | Whether countermeasures against envisaged inhibitory factors for sustainability were discussed by the Project and C/Ps.   | Views of related players  | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Project reports</li> <li>② JICA Experts</li> </ol>  | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Questionnaires</li> <li>② Interview</li> </ol>   |   |
|  | Concrete preparation for sustaining the Lao-Japan parasitology laboratory in the IPL or the continuation of collaborative research following the end of the project period has been done between the IPL and the Japanese research organizations. | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Intentions of the IPL and the Japanese implementing organizations (NCGM, the Univ. of Tokyo and the Univ. of Ryukyus)</li> <li>② Agreements between relevant organizations such as the memorandum of Understanding (MOU)</li> <li>③ Others</li> </ol> Views of related players | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Agreement document(s) such as the MOU</li> <li>③ Views of related players</li> </ol>  | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Document review</li> <li>② Questionnaire</li> <li>③ Interview</li> </ol>   |   |
| Comprehensive sustainability   | Whether the comprehensive sustainability is secured or not, in the view of above-mentioned aspects.   | Views of related players  | <ol style="list-style-type: none"> <li>① Project documents</li> <li>② JICA Experts, C/P</li> <li>③ Views of related players</li> </ol>   | <p>Analytical evaluation: by the Joint Evaluation Team</p>  |   |

Annex 4: List of Interviewees

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

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| Dr. Bouasy HONGVATHONG      | Director (Project Director)             |
| Mr. Somphane SENGPIMTHONG   | Deputy Chief of Laboratory Division     |
| Dr. Vonethalom THONGPASEUTH | Deputy Chief of Labo and Treatment Unit |

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

|               |                            |
|---------------|----------------------------|
| Dr. Paul BREY | Director (Project Manager) |
|---------------|----------------------------|

**Parasitology Laboratory**

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| Mr. Yasumasa NAGAOKA          | Project Coordinator (JICA Expert)               |
| Dr. Phoyphalinh Prasayasith   | Junior Scientist, Lao-Japan Lab                 |
| Dr. Elodie CALVEZ             | Scientist, Arbovirus&Emergingviral diseases lab |
| Dr. Phonepadith KHATTIGNAVONG | Junior Scientist, Lao-Japan Lab                 |
| Dr. Sengdeuane KEOMALAPHET    | Junior Scientist, Lao-Japan Lab                 |
| Ms. Pheovaly SOUNDALA         | Lab Technician, Lao-Japan Lab                   |
| Ms. Sonessimaly SANNIKONE     | Lab Technician, Lao-Japan Lab                   |

**Medical Entomology & Biology of Disease Vectors Laboratory**

|                        |                                   |
|------------------------|-----------------------------------|
| Dr. Sebastien MARCOMBE | Scientist, Lao-French Joint Lab 2 |
|------------------------|-----------------------------------|

**3. Lao Tropical and Public Health Institute (Lao TPHI), Ministry of Health**

|                          |                               |
|--------------------------|-------------------------------|
| Dr. Sengchanh KOUNNAVONG | Director                      |
| Dr. Somphou SAYASONE     | Head of International Program |
| Dr. Inthavong NOUHAK     |                               |

**4. National Center for Laboratory and Epidemiology (NCLE)**

|                              |                 |
|------------------------------|-----------------|
| Dr. Phoepadith Xangsayarath, | Deputy Director |
|------------------------------|-----------------|

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

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| Dr. Matthew SHORTUS           | Technical Officer, Malaria                                     |
| Dr. Chitsavang CHANTHAVISOUK  | National Professional Officer (Malaria)                        |
| Dr. Thippavanh CHANTHAPASEUTH | National Professional Officer<br>(Neglected Tropical Diseases) |

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

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| Dr. Chansamone THANABOUSASY | Director, Section of Malariaology,<br>Parasitology and Entomology |
|-----------------------------|---|





List of Project Members

Annex 5-1

| The Japanese Side |                            |  |                        |          |       |      |       |          |
|-------------------|----------------------------|--|------------------------|----------|-------|------|-------|----------|
| Group Leader      | Name                       | Organisation   | Position (Title)       | Duration |       |      |       | Note     |
|                   |                            |  |                        | Start    |       | End  |       |          |
|                   |                            |  |                        | Year     | Month | Year | Month |          |
| ○                 | Shigeyuki KANO             | Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM  | Director               | 2013     | 5     | 2019 | 4     |          |
|                   | Moritoshi IWAGAMI          | Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM  | Senior Research Fellow | 2013     | 5     | 2019 | 4     |          |
|                   | Emilie MATSUMOTO-TAKAHASHI | Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM  | Researcher             | 2014     | 4     | 2019 | 4     |          |
|                   | 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 | 4     |          |
|                   | 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  | Visiting Researcher    | 2013     | 5     | 2019 | 4     |          |
|                   | Meguami SATO               | Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM  | Visiting Researcher    | 2015     | 4     | 2019 | 4     |          |
|                   | Satoru KAWAI               | Department of Tropical Medicine and Malaria, Research Institute, NCGM  | Visiting Researcher    | 2015     | 4     | 2019 | 4     |          |
|                   | Tamotsu NAKASA             | Technical Cooperation Center, Bureau of International Medical Cooperation, NCGM  | Director               | 2013     | 5     | 2018 | 3     | Resigned |
|                   | Masamine JIMBA             | Department of Community and Global Health, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo  | Professor              | 2013     | 5     | 2019 | 4     |          |
|                   | Ken ING CHERNG ONG         | Department of Community and Global Health, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo  | Assistant Professor    | 2015     | 4     | 2019 | 4     |          |
|                   | Hitomi ARAKI               | Department of Community and Global Health, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo  | PhD. Student (D2)      | 2015     | 4     | 2019 | 4     |          |
|                   | Jun KOBAYASHI              | Department of Global Health, School of Health Sciences, University of the Ryukyus  | Professor              | 2013     | 5     | 2019 | 4     |          |
|                   | Daisuke NONAKA             | Department of Global Health, School of Health Sciences, University of the Ryukyus  | Associate Professor    | 2014     | 10    | 2019 | 4     |          |
|                   | Emiri TAKAHASHI            | Department of Global Health, School of Health Sciences, University of the Ryukyus  | PhD. Student (D3)      | 2015     | 4     | 2019 | 4     |          |
|                   | Masashi AZUMA              | Department of Global Health, School of Health Sciences, University of the Ryukyus  | Master Student (M2)    | 2015     | 4     | 2017 | 3     | Resigned |
|                   | Toshihiro MITA             | Department of Molecular and Cellular Parasitology, Juntendo University, School of Medicine   | Professor              | 2013     | 5     | 2019 | 4     |          |
|                   | 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 | 4     |          |
|                   | 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     | Resigned |

## The Laos Side

| Group Leader | Name                           | Organisation   | Position (Title)                         | Duration |       |      |       | Note     |
|--------------|--------------------------------|--|--|----------|-------|------|-------|----------|
|              |                                |  |  | Start    |       | End  |       |          |
|              |                                |  |  | Year     | Month | Year | Month |          |
| o            | Bouassy HONGVANTHONG           | Center of Malariaology, 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 Laboratory, IPL                                   | Junior Scientist                         | 2014     | 5     | 2019 | 4     |          |
|              | Sengdeuane KEOMALAPHET         | Parasitology Laboratory, IPL                                   | Junior Scientist                         | 2015     | 10    | 2019 | 4     |          |
|              | Phoyplayinh PRASAYASITH        | Parasitology Laboratory, IPL                                   | Junior Scientist                         | 2017     | 9     | 2019 | 4     |          |
|              | Lavy LORPHACHANH               | Parasitology Laboratory, IPL                                   | Laboratory Technician                    | 2014     | 5     | 2017 | 12    | Resigned |
|              | Pheovaly SOUNDALA              | Parasitology Laboratory, IPL                                   | Laboratory Technician                    | 2014     | 5     | 2019 | 4     |          |
|              | Sonesimally SANNIKONE          | Parasitology Laboratory, IPL                                   | Laboratory Technician                    | 2018     | 6     | 2019 | 4     |          |
|              | Eng SAYAVONG                   | Parasitology Laboratory, IPL                                   | Junior Scientist                         | 2014     | 5     | 2014 | 7     | Resigned |
|              | Somsanith CHONEPHETSARATH      | Entomology Laboratory, IPL                                     | Laboratory Technician                    | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |
|              | Phoutnalong VILAY              | Center of Malariaology, Parasitology and Entomology(CMPE), MOH | Vice Chief of Administration Unit        | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |
|              | Sengchanh KOUNNAVONG           | Lao Tropical and Public Health Institute (laoTPHI), MOH        | Director                                 | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |
|              | Somphou SAYASONE               | Lao Tropical and Public Health Institute (laoTPHI), MOH        | Deputy Head of Research Division         | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |
|              | Inthavong NOUHAH               | Lao Tropical and Public Health Institute (laoTPHI), MOH        | Staff                                    | 2015     | 4     | 2019 | 4     |          |
|              | Phonepadith XANGSAYARATH       | National Center for Laboratory and Epidemiology (NCLE), MOH    | Deputy Director                          | 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               | TB Center, MOH   | Deputy of Disease Prevention Division    | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |
|              | Chandavone PHOXAY              | Food and Nutrition Center, MOH                                 | Deputy Director                          | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |
|              | Souligthai THAMMALANGSY        | Minister of Secretary, MOH                                     | Staff, Primary Health Care Division      | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |
|              | Khatthanaphone PHANDOUANGANGSY | Department of Hygiene and Health Promotion (DHHIP), MOH        | Staff, Primary Health Care Division      | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |
|              | Bouthavong PHENGSIOMBOUN       | Department of Training and Research (DTR), MOH                 | Deputy Director                          | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |
|              | Senglavay 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           | Savannakhet Provincial Health Department, MOH                  | Deputy Director                          | 2015     | 8     | 2019 | 4     |          |

## Dispatch of JICA Experts

Annex 5-2

### Long-term Experts

| No | Name                    | Job Title   | Period                       |
|----|-------------------------|---|------------------------------|
| 1  | Moritoshi IWAGAMI (Mr.) | Expert (Research Supervision/ Genetic Analysis and Evaluation Research) | 01 July 2014 - 30 April 2019 |
| 2  | Tetsuo YAMASHITA (Mr.)  | Project Coordinator   | 07 Aug 2014 - 05 Aug 2016    |
| 3  | Kimiko MASUDA (Ms.)     | Project Coordinator   | 28 July 2016 - 27 July 2018  |
| 4  | Yasumasa NAGAOKA (Mr.)  | Project Coordinator   | 30 July 2018 - 30 April 2019 |

### 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 | 15 Oct - 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     |
| 47 | Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)   | Chief Advisor     | 10 Dec - 17 Dec 2016     |
| 48 | Prof. Masamine JIMBA (Mr.) | Short-term Expert | 10 Dec- 16 Dec 2016      |
| 49 | Prof. Jun KOBAYASHI (Mr.)  | Short-term Expert | 13 Dec- 17 Dec 2016      |
| 50 | Dr. Tamotsu NAKASA (Mr.)   | Short-term Expert | 13 Dec - 17 Dec2016      |
| 51 | Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)   | Chief Advisor     | 15 Jan - 20 Jan 2017     |
| 52 | Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)  | Short-term Expert | 24 Jan - 04 Feb 2017     |
| 53 | Dr. Daisuke NONAKA (Mr. )  | Short-term Expert | 06 Feb- 09 Feb 2017      |
| 54 | Prof. Masamine JIMBA (Mr.) | Short-term Expert | 23 Feb- 27 Feb 2017      |
| 55 | Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)   | Chief Advisor     | 05 Mar - 09 Mar 2017     |
| 56 | Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)  | Short-term Expert | 25 April - 01 May 2017   |
| 57 | Prof. Masamine JIMBA (Mr.) | Short-term Expert | 01 July- 07 July 2017    |
| 58 | Dr. Daisuke NONAKA (Mr. )  | Short-term Expert | 06 Aug - 09 Aug 2017     |
| 59 | Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)   | Chief Advisor     | 30 Sep - 04 Oct 2017     |
| 60 | Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)   | Chief Advisor     | 21 Oct - 26 Oct 2017     |
| 61 | Prof. Masamine JIMBA (Mr.) | Short-term Expert | 21 Oct - 27 Oct 2017     |
| 62 | Dr. Masami NAKATSU (Ms.)   | Short-term Expert | 22 Oct - 27 Oct 2017     |
| 63 | Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)  | Short-term Expert | 22 Oct - 26 Oct 2017     |
| 64 | Dr. Megumi SATO (Ms.)      | Short-term Expert | 22 Oct - 26 Oct 2017     |
| 65 | Dr. Daisuke NONAKA (Mr. )  | Short-term Expert | 22 Oct - 26 Oct 2017     |
| 66 | Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)  | Short-term Expert | 23 Jan - 27 Jan 2018     |
| 67 | Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)   | Chief Advisor     | 19 Feb - 23 Feb 2018     |
| 68 | Prof. Masamine JIMBA (Mr.) | Short-term Expert | 21 Feb - 26 Feb 2018     |
| 69 | Dr. Takashi KUMAGAI (Mr.)  | Short-term Expert | 19 April - 29 April 2018 |
| 70 | Dr. Masami NAKATSU (Ms.)   | Short-term Expert | 20 April - 23 April 2018 |
| 71 | Dr. Shigeyuki KANO (Mr.)   | Chief Advisor     | 24 June - 26 June 2018   |
| 72 | Prof. Masamine JIMBA (Mr.) | Short-term Expert | 24 June - 27 June 2018   |
| 73 | Dr. Masami NAKATSU (Ms.)   | Short-term Expert | 25 June - 29 June 2018   |



Counterpart Researcher's visit to Japan

Annex 5-3

| 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       | Necessary discussion regarding to the SATREPS Project.   | 5               |
| Dr. Antoine des GRAVIERS | Male   | IPL         | Chief Financial Officer | NCGM                                    | Meeting and Discussion            | 20150608         | 20150612       | Necessary 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               |
| Dr. Paul BREY            | Male   | IPL         | Director                | NCGM, JICA, AMED, University of Ryukyus | Research Meeting and Discussion   | 20170413         | 20170421       | Participation of Scientific Meeting and discussion   | 9               |
| Dr. Antoine des GRAVIERS | Male   | IPL         | Chief Financial Officer | NCGM, JICA, AMED, University of Ryukyus | Research Meeting and Discussion   | 20170413         | 20170421       | Participation of Scientific Meeting and discussion   | 9               |
| Dr. Paul BREY            | Male   | IPL         | Director                | NCGM                                    | Scientific Meeting and Discussion | 20180315         | 20180321       | Participation of Scientific Meeting and discussion   | 7               |

## Training in Japan

ANNEX-4

### 1) Training in Japan (Short Term)

| Name                                | Sex    | Organisation | Position   | Training Site   | Training Area  | Departure Date | Arrival Date | Training Contents   | Duration (days) |
|-------------------------------------|--------|--------------|--|---|--|----------------|--------------|---|-----------------|
| Ms. Somsarith<br>CHONPHETSARAT<br>H | Female | IPL          | Medical<br>Entomology &<br>Biology of<br>Disease<br>Vectors<br>Laboratory,<br>Laboratory<br>Technician | NCGM and Jikei<br>University School of<br>Medicine,<br>Department of<br>Tropical Medicine | To learn the skills<br>and knowledges of<br>molecular biology of<br>malaria and other<br>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              |
| Dr. Sengdeuane<br>KEOMALAPHET       | Female | IPL          | Parasitology<br>Laboratory,<br>Junior<br>Scientist   | NCGM  | To learn the skills<br>and knowledges of<br>molecular biology of<br>malaria and other<br>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              |
| Ms. Phoavaly<br>SOUNDALA            | Female | IPL          | Parasitology<br>Laboratory,<br>Technician  | NCGM  | To learn the skills<br>and knowledges of<br>molecular biology of<br>malaria and other<br>infectious diseases | 20180204       | 20180303     | 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.  | 28              |
| Dr. Sengdeuane<br>KEOMALAPHET       | Female | IPL          | Parasitology<br>Laboratory,<br>Junior<br>Scientist   | NCGM  | To learn the skills<br>and knowledges of<br>molecular biology of<br>malaria and other<br>infectious diseases | 20180725       | 20180831     | 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.  | 37              |



2) Training in Japan (Long Term)

| Name                | Sex  | Organisation | Position                             | Training Site         | Training Area   | Departure Date | Arrival Date | Training Contents   | Duration (days) |
|---------------------|------|--------------|--------------------------------------|-----------------------|---|----------------|--------------|---|-----------------|
| Mr Phoumalong VILAY | Male | CMPE         | Vice Chief of Administration in Unit | University of Ryukyus | To learn the skills and knowledge of malaria epidemiology and control | 2016/4/01      | 2019/03/20   | 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            |



Domestic Training in the Lao P.D.R

Annex5-5

| Date             | Training Name  | Venue                  | Course Summary   | Participants                                |
|------------------|--|------------------------|--|---|
| 22-26 June, 2015 | Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians | IPL                    | 1. Lecture<br>2. Practice<br>3. Group Discussion & Presentation<br>4. Evaluation | Attapeu (12)                                |
| 13-17 July, 2015 | Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians | IPL                    | 1. Lecture<br>2. Practice<br>3. Group Discussion & Presentation<br>4. Evaluation | Sekong (11), Champasak (15)                 |
| 10-14 Aug, 2015  | Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians | IPL                    | 1. Lecture<br>2. Practice<br>3. Group Discussion & Presentation<br>4. Evaluation | Savannakhet (17), Saravane (14)             |
| 19-20 Oct, 2015  | Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians | Savannakhet Province   | 1. Lecture<br>2. Practice<br>3. Evaluation                                       | Savannakhet (35)                            |
| 22-23 Oct, 2015  | Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians | Champasak Province     | 1. Lecture<br>2. Practice<br>3. Evaluation                                       | Champasak (18)                              |
| 26-27 Oct, 2015  | Training Course for LAMP method for medical lab technicians                  | Saravane Province      | 1. Lecture<br>2. Practice<br>3. Evaluation                                       | Saravane (13)                               |
| 28-29 Oct, 2015  | Training Course for LAMP method for medical lab technicians                  | Sekong Province        | 1. Lecture<br>2. Practice<br>3. Evaluation                                       | Sekong (8)                                  |
| 15-17 Aug, 2016  | Training Course for LAMP method for medical lab technicians                  | IPL & CMPE             | 1. Lecture<br>2. Practice  | CMPE Vientiane (3)                          |
| 22-23 Aug, 2016  | Training Course for LAMP method for medical lab technicians                  | Savannakhet Province   | 1. Lecture<br>2. Practice  | Provincial Health Office, Savannakhet (5)   |
| 24-25 Aug, 2016  | Training Course for LAMP method for medical lab technicians                  | Champasak Province     | 1. Lecture<br>2. Practice  | Provincial Health Office, Champasak (3)     |
| 5-7 Sep, 2016    | Training Course for LAMP method for medical lab technicians                  | Luangprabang Province  | 1. Lecture<br>2. Practice  | Provincial Health Office, Luangprabang (6)  |
| 27-28 Sep, 2016  | Training Course for LAMP method for medical lab technicians                  | Luangprabang Province  | 1. Follow up Practice<br>2. Q&A  | Provincial Health Office, Luangprabang (2)  |
| 31 Oct, 2016     | Follow up Training   | Attapeu Province       | 1. Follow up Lecture<br>2. Q&A   | Attapeu (23)                                |
| 1 Nov, 2016      | Follow up Training   | Champasak Province     | 1. Follow up Lecture<br>2. Q&A   | Champasak (33)                              |
| 2 Nov, 2016      | Follow up Training   | Sekong Province        | 1. Follow up Lecture<br>2. Q&A   | Sekong (19)                                 |
| 3 Nov, 2016      | Follow up Training   | Saravane Province      | 1. Follow up Lecture<br>2. Q&A   | Saravane (21)                               |
| 4 Nov, 2016      | Follow up Training   | Savannakhet Province   | 1. Follow up Lecture<br>2. Q&A   | Savannakhet 1 (37)                          |
| 14 Nov, 2016     | Follow up Training   | Savannakhet Province   | 1. Follow up Lecture<br>2. Q&A   | Savannakhet 2 (24)                          |
| 17-18 Jan 2017   | Follow up Training of Malaria LAMP method for medical lab technicians        | Luang Prabang Province | Follow up practice, trouble shooting and Q&A                                     | Provincial Health Office, Luang Prabang (3) |
| 6-7 Mar 2017     | Follow up Training of Malaria LAMP method for medical lab technicians        | Savannakhet Province   | Follow up practice, trouble shooting and Q&A                                     | Provincial Health Office, Savannakhet (3)   |
| 9-10 Mar 2017    | Follow up Training of Malaria LAMP method for medical lab technicians        | Champasak Province     | Follow up practice, trouble shooting and Q&A                                     | Provincial Health Office, Champasak (3)     |
| 2 Nov 2017       | Training Course for parasitic diseases diagnosis for medical lab technicians | Phongsaly Province     | 1. Lecture<br>2. Practice<br>3. Group Discussion & Presentation<br>4. Evaluation | Phongsaly (9)                               |

Grand Total : 337

## Provision of Equipment

Annex 3-6

| No.      | Procurement        | Items   | Qty | Allocation   | Arrival Date | Usage Status | Note | Price (Yen)       |            |
|----------|--------------------|---|-----|--|--------------|--------------|------|-------------------|------------|
| 1        | Purchased in Japan | DNA Sequencer (Genetic Analyzer)  | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141007     | In Use       |      | 20,366,530        |            |
| 2        | Purchased in Japan | Microchip Electrophoresis System for DNA/RNA Analysis                       | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141031     | In Use       |      | 6,167,880         |            |
| 3        | Purchased in Japan | Real-time PCR System  | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141031     | In Use       |      | 4,950,000         |            |
| 4        | Purchased in Japan | Thermal Cycler  | 3   | Institut Pasteur du Laos   | 20141031     | In Use       |      | 2,646,000         |            |
| 5        | Purchased in Japan | Microscope + CCD Camera System  | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141031     | In Use       |      | 2,987,100         |            |
| 6        | Purchased in Japan | Spectrophotometer   | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141031     | In Use       |      | 1,989,000         |            |
| 7        | Purchased in Japan | Gel Imaging System  | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141031     | In Use       |      | 904,500           |            |
| 8        | Purchased in Japan | Biological Shaker   | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141031     | In Use       |      | 385,000           |            |
| 9        | Purchased in Japan | Zoom Stereo Microscope  | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141031     | In Use       |      | 539,190           |            |
| 10       | Purchased in Japan | Ultra Low Freezer (-80°C)   | 2   | Institut Pasteur du Laos   | 20141124     | In Use       |      | 5,039,136         |            |
| 11       | Purchased in Japan | Laboratory Freezer (-30°C)  | 3   | Institut Pasteur du Laos   | 20141124     | In Use       |      | 1,102,107         |            |
| 12       | Purchased in Japan | Pharmaceutical Refrigerators  | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141124     | In Use       |      | 334,800           |            |
| 13       | Purchased in Japan | Multi-Gas Incubator   | 2   | Institut Pasteur du Laos   | 20141124     | In Use       |      | 3,093,524         |            |
| 14       | Purchased in Japan | Refrigerated Centrifuge with Rotor for 1.5ml, Rotor for 15ml and 50ml tubes | 2   | Institut Pasteur du Laos   | 20141124     | In Use       |      | 2,227,000         |            |
| 15       | Purchased in Japan | Biological Safety Cabinet   | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141124     | In Use       |      | 1,296,000         |            |
| 16       | Purchased in Japan | DNA Concentrator  | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20141124     | In Use       |      | 1,314,000         |            |
| 17       | Purchased in Japan | Tabletop Mini Centrifuge  | 2   | Institut Pasteur du Laos   | 20141124     | In Use       |      | 621,000           |            |
| 18       | Purchased in Japan | Aspirator System  | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20150225     | In Use       |      | 67,500            |            |
| 19       | Purchased in Japan | Balance   | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20150225     | In Use       |      | 15,000            |            |
| 20       | Purchased in Japan | Draft Chamber   | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20160128     | In Use       |      | 240,000           |            |
| 21       | Purchased in Japan | Real-time Turbidity Measuring Instrument                                    | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20160128     | In Use       |      | 2,876,800         |            |
| 22       | Purchased in Japan | 4WD Car   | 1   | Institut Pasteur du Laos   | 20160216     | In Use       |      | 4,914,000         |            |
| 23       | Purchased in Japan | Loopamp Homeothermal Equipment with UV lamp                                 | 5   | Institut Pasteur du Laos (1)<br>CMPE Vientiane (1)<br>Provincial Health Office, Savannakhet (1)<br>Provincial Health Office, Champasak (1) | 20160503     | In Use       |      | 3,060,000         |            |
| 23 Items |                    |   |     |  |              |              |      | Grand Total (Yen) | 67,336,067 |

### List of published original papers in the project

1. Moritoshi Iwagami, Noppadon Tangpukdee, Polrat Wilairatana, Srivicha Krudsood, Le Duc Dao, Shusuke Nakazawa, Muth Sinuon, Duong Socheat, Junko Yasuoka, Masamine Jimba, Hisami Watanabe, Jun Kobayashi, Hiromu Toma, Viengxay Vanisaveth, Bouasy Hongvanthong, Paul T Brey, Shigeyuki Kano. *Pfprt* genotypes and related microsatellite DNA polymorphisms on *Plasmodium falciparum* differed among populations in the Greater Mekong Subregion. *Parasitology International*, 67: 816-823.2018.
2. Hitomi Araki, Ken Ing Cherng Ong, Lavy Lorphachan, Pheovaly Soundala, Moritoshi Iwagami, Akira Shibanuma, Bouasy Hongvanthong, Paul T. Brey, Shigeyuki Kano, Masamine Jimba. Mothers' *Opisthorchis viverrini* infection status and raw fish dish consumption in Lao People's Democratic Republic: determinants of child infection status. *Tropical Medicine and Health*, 46:29.2018.
3. Moritoshi Iwagami, Masami Nakatsu, Phonepadith Khattignavong, Pheovaly Soundala, Lavy Lorphachan, Sengdeuane Keomalaphet, Phonepadith Xangsavalath, Satoru Kawai, Bouasy Hongvanthong, Paul T. Brey, Shigeyuki Kano. First case of human infection with *Plasmodium knowlesi* in Laos. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(3): e0006244.2018.
4. Moritoshi Iwagami, Sengdeuane Keomalaphet, Phonepadith Khattignavong, Pheovaly Soundala, Lavy Lorphachan, Emilie Matsumoto-Takahashi, Michel Strobel, Daniel Reinharz, Manisack Phommasansack, Bouasy Hongvanthong, Paul T. Brey, Shigeyuki Kano. The detection of cryptic *Plasmodium* infection among villagers in Attapeu province, Lao PDR. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(12): e0006148.2017.
5. Nouhak Inthavong, Daisuke Nonaka, Sengchanh Kounnavong, Moritoshi Iwagami, Souraxay Phommala, Jun Kobayashi, Bouasy Hongvanthong, Tiengkham Pongvongsa, Paul T. Brey, Shigeyuki Kano. Individual and household factors associated with incidences of village malaria in Xepon district, Savannakhet province, Lao PDR. *Tropical Medicine and Health*, 45: 36. 2017.
6. Ken Ing Cherng Ong, Hodaka Kosugi, Sophea Thoeun, Hitomi Araki, Moe Moe Thandar, Moritoshi Iwagami, Bouasy Hongvanthong, Paul T. Brey, Shigeyuki Kano, Masamine Jimba. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the Greater Mekong Subregion: a systematic review of the clinical manifestations for malaria elimination and beyond. *BMJ Global Health*, 2: e000415. 2017.
7. Tiengkham Pongvongsa, Daisuke Nonaka, Moritoshi Iwagami, Masami Nakatsu, Panom Phongmany, Futoshi Nishimoto, Jun Kobayashi, Bouasy Hongvanthong, Paul T. Brey, Kazuhiko Moji, Toshihiro Mita, Shigeyuki Kano. Household clustering of asymptomatic malaria infections in Xepon district, Savannakhet province, Lao PDR. *Malaria Journal*, 15: 508. 2016.
8. Menard D, Khim N, Beghain J, Adegnika AA, Shafiu-Alam M, Amodu O, Rahim-Awab G, Barnadas C, Berry A, Boum Y, Bustos MD, Cao J, Chen JH, Collet L, Cui L, Thakur GD, Dieye A, Djalle D, Dorkenoo MA, Eboumbou-Moukoko CE, Espino FE, Fandeur T, Ferreira-da-Cruz MF, Fola AA, Fuehrer HP, Hassan AM, Herrera S, Hongvanthong B, Houze S, Ibrahim ML, Jahirul-Karim M, Jiang L, Kano S.

Ali-Khan W, Khanthavong M, Kremsner PG, Lacerda M, Leang R, Leclawong M, Li M, Lin K, Mazarati JB, Menard S, Morlais I, Muhindo-Mavoko H, Musset L, Na-Bangchang K, Nambozi M, Niare K, Noedl H, Ouedraogo JB, Pillai DR, Pradines B, Quang-Phuc B, Ramharter M, Randrianariveolosia M, Sattabongkot J, Sheikh-Omar A, Silue KD, Sirima SB, Sutherland C, Syafruddin D, Tahar R, Tang LH, Toure OA, Tshibangu-wa- Tshibangu P, Vigan-Womas I, Warsame M, Wini L, Zakeri S, Kim S, Eam R, Berne L, Khean C, Chy S, Ken M, Loch K, Canier L, Duru V, Legrand E, Barale JC, Stokes B, Straimer J, Witkowski B, Fidock DA, Rogier C, Ringwald P, Arley F, Mercereau-Puijalon O. KARMA Consortium. (Contributors: Moritoshi Iwagami, Paul T. Brey) A Worldwide Map of *Plasmodium falciparum* K13-Propeller Polymorphisms. *New England Journal of Medicine*, 374: 2453-2464. 2016.

9. Vincent et al., Combination of PURE-DNA extraction and LAMP-DNA amplification methods for accurate malaria diagnosis on dried blood spots, *Malaria Journal* 2018 (accepted for publication)



