

Title	ガーナの小児不明熱患者における原虫感染症分布の解析と、簡易原虫遺伝子診断法の開発
Sub Title	Development of point-of-care diagnostic test for protozoal infectious diseases : analysis of distribution of protozoal infection amongst pediatric patients with fever of unknown in Ghana.
Author	三木田, 韶(Mikita, Kei)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>原虫感染症診断においては、遺伝子增幅法が有用である。しかしながら、原虫感染症流行地域においては、高価な機器や、試薬の保存・輸送に冷凍庫が必要なPCR法は一般的な検査法として実施し得ない。そのため、特別な機器を必要としない等温遺伝子增幅法であるLAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法が、発展途上国で実際に応用されている。</p> <p>本年度の研究で我々は、上記のLAMP法に加え、等温遺伝子診断法であるRPA (recombinase polymerase amplification) 法と、遺伝子增幅反応物を検出紙で検出するDNA-chromatographyを組み合わせた、原虫感染症診断法の開発を行った。</p> <p>本年度は、<i>Entamoeba histolytica</i>、<i>Toxoplasma gondii</i>、<i>Giardia interstinalis</i>をターゲットに、RPA + DNA chromatography診断系の確立を行った。結果としては、<i>E. histolytica</i>については、0.1 parasites/μLまでの検出が可能であり、これは既存のPCR法と同等の検出感度であり、またLAMP法よりも高い検出感度を示した。<i>G. interstinalis</i>については、Assemblage Aで0.1 parasites/μL、Assemblage Bで0.1 parasites/μLまで検出が可能であった。<i>Toxoplasma gondii</i>については、RPA法までの検討を行い、0.01 parasites/μLで検出可能であった。</p> <p>今後は臨床検体を用いて感度・特異度を明らかにしていく予定である。</p> <p>Gene amplification is useful in the diagnosis of protozoal infections. PCR method needs the expensive equipment and a freezer for storage and transport of reagents, therefore PCR can not be used generally in the protozoal infection epidemic area, Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method, which is an isothermal gene amplification method that does not require special equipment, is actually applied in developing countries.</p> <p>We tried to develop LAMP method and RPA (recombinase polymerase amplification) method, which is an isothermal gene diagnosis method as gene amplification methods, combined with DNA-chromatography that detects gene amplification reaction products with lateral flow paper.</p> <p>We established RPA + DNA chromatography diagnostic system targeting <i>Entamoeba histolytica</i>, <i>Toxoplasma gondii</i> and <i>Giardia interstinalis</i>. As a result, for <i>E. histolytica</i>, detection up to 0.1 parasites /μL is possible, which is equivalent to the detection sensitivity of the existing PCR method and shows higher detection sensitivity than the LAMP method.</p> <p>As for <i>G. interstinalis</i>, the detection limit is 0.1 parasites / μL with Assemblage A and 0.1 parasites/μL with Assemblage B. With regard to <i>Toxoplasma gondii</i>, the study was conducted up to the RPA method, and the detection limit is 0.01 parasites μL.</p> <p>We will clarify the sensitivity and the specificity of these tests using clinical specimens in the future study.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180360

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	専任講師	補助額	500（特B）千円
	氏名	三木田 馨	氏名（英語）	Kei Mikita		

研究課題（日本語）

ガーナの小児不明熱患者における原虫感染症分布の解析と、簡易原虫遺伝子診断法の開発

研究課題（英訳）

Development of point-of-care diagnostic test for protozoal infectious diseases : Analysis of distribution of protozoal infection amongst pediatric patients with fever of unknown in Ghana.

1. 研究成果実績の概要

原虫感染症診断においては、遺伝子增幅法が有用である。しかしながら、原虫感染症流行地域においては、高価な機器や、試薬の保存・輸送に冷凍庫が必要なPCR法は一般的な検査法として実施し得ない。そのため、特別な機器を必要としない等温遺伝子増幅法であるLAMP (loop-mediated isothermal amplification)法が、発展途上国で実際に応用されている。

本年度の研究で我々は、上記のLAMP法に加え、等温遺伝子診断法であるRPA (recombinase polymerase amplification)法と、遺伝子増幅反応物を検出紙で検出するDNA-chromatographyを組み合わせた、原虫感染症診断法の開発を行った。

本年度は、*Entamoeba histolytica*、*Toxoplasma gondii*、*Giardia interstinalis*をターゲットに、RPA + DNA chromatography診断系の確立を行った。結果としては、*E. histolytica*については、0.1 parasites/μLまでの検出が可能であり、これは既存のPCR法と同等の検出感度であり、またLAMP法よりも高い検出感度を示した。*G. interstinalis*については、Assemblage Aで0.1 parasites/μL、Assemblage Bで0.1 parasites/μLまで検出が可能であった。*Toxoplasma gondii*については、RPA法までの検討を行い、0.01 parasites/μLで検出可能であった。

今後は臨床検体を用いて感度・特異度を明らかにしていく予定である。

2. 研究成果実績の概要（英訳）

Gene amplification is useful in the diagnosis of protozoal infections. PCR method needs the expensive equipment and a freezer for storage and transport of reagents, therefore PCR can not be used generally in the protozoal infection epidemic area. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method, which is an isothermal gene amplification method that does not require special equipment, is actually applied in developing countries.

We tried to develop LAMP method and RPA (recombinase polymerase amplification) method, which is an isothermal gene diagnosis method as gene amplification methods, combined with DNA-chromatography that detects gene amplification reaction products with lateral flow paper.

We established RPA + DNA chromatography diagnostic system targeting *Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii* and *Giardia interstinalis*. As a result, for *E. histolytica*, detection up to 0.1 parasites / μL is possible, which is equivalent to the detection sensitivity of the existing PCR method and shows higher detection sensitivity than the LAMP method.

As for *G. interstinalis*, the detection limit is 0.1 parasites / μL with Assemblage A and 0.1 parasites/ μL with Assemblage B. With regard to *Toxoplasma gondii*, the study was conducted up to the RPA method, and the detection limit is 0.01 parasites / μL. We will clarify the sensitivity and the specificity of these tests using clinical specimens in the future study.

3. 本研究課題に関する発表

発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)
小山 玄紀	等温遺伝子増幅法を用いたアメーバ症検査法の開発	第59回日本熱帯医学会大会	2018年11月