

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, 馨(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、遺伝子増幅法が有用である。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。</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。</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/<math>\mu</math>L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/<math>\mu</math>L、Assemblage Bで0.1 parasites/<math>\mu</math>L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/<math>\mu</math>L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。</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 /<math>\mu</math>L 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 / <math>\mu</math>L with Assemblage A and 0.1 parasites/<math>\mu</math>L 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 <math>\mu</math>L.</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	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180360">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180360</a>

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						
<p>原虫感染症診断においては、遺伝子増幅法が有用である。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。</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。</p> <p>本年度は、Entamoeba histolytica、Toxoplasma gondii、Giardia intestinalis 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/ <math>\mu</math>L 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. interatinalis については、Assemblage A で 0.1 parasites/ <math>\mu</math>L、Assemblage B で 0.1 parasites/ <math>\mu</math>L 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/ <math>\mu</math>L 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>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<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 Entamoeba histolytica, Toxoplasma gondii and Giardia intestinalis. As a result, for E. histolytica, detection up to 0.1 parasites / <math>\mu</math>L 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 G. interatinalis, the detection limit is 0.1 parasites / <math>\mu</math>L with Assemblage A and 0.1 parasites/ <math>\mu</math>L 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 <math>\mu</math>L. We will clarify the sensitivity and the specificity of these tests using clinical specimens in the future study.</p>						
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			