

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04570

研究課題名(和文)豚舎内のエアロゾル、空气中病原微生物濃度の動態解明とモニタリングに向けた基礎研究

研究課題名(英文) Study on monitoring microbe and aerosol concentration in the air in weaning piggeries

研究代表者

池口 厚男 (Ikeguchi, Atsuo)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号：10222415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：畜舎内で発生するエアロゾルには臭気成分および病原体等の微生物が付着し、それらが畜舎内や畜舎外へ拡散する媒体となっている。本研究は、最も疾病の発生が課題となる離乳豚舎を対象にエアロゾル濃度と知見が少ない病原ウイルス濃度との関係を明らかにした。粒径2.0から5.0マイクロメートルのエアロゾル濃度が1立方メートル当たり10の6乗個以上となると豚サペロウイルス(PSV)が検出され、空気衛生ウイルスの指標となることを示した。また、上記を検出するためのLED素子等を用いた簡易エアロゾルセンサーの開発を検討した。

研究成果の概要(英文)：Aerosols on which pathogens and odor elements are attached are dispersed inside and outside livestock houses and be carriers of diseases. In this study the relationship between aerosol concentration and pathogenic viruses was elucidated in weaning piggeries. It was found that Picornaviridae Sapelovirus (PSV) could be indicator of pathogenic virus in the air and it was detected when the concentration of aerosol whose diameter was from 2.0 to 5.0 micro meter was more than 10 particles / m

In order to detect PSV, a simple aerosol concentration detector which was composed from LED was developed.

研究分野：農業環境工学

キーワード：エアロゾル バイオエアロゾル 養豚 病原ウイルス エアロゾルセンサー

### 1. 研究開始当初の背景

我が国の養豚農場では死亡率が平均約 10%と高く、養豚農場密集地域では 10%を超えている。主な死亡原因は病原微生物の感染による呼吸器疾患である。その主因である豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) や豚サーコウイルス 2 型 (PCV2)、そして豚マイコプラズマ等の病原微生物は多くの農場で常在しているため、飼養衛生管理を含めた総合的な対策が求められている。特に畜舎内で発生するエアロゾルは病原微生物の伝播に重要な役割を果たすと考えられており、その対策が必要とされている。また、養豚では食中毒起因菌に加え、人獣共通感染症病原体も多く確認されており、食の安全に向けた農場の衛生環境改善が強く求められている。平成 23 年に家畜伝染病予防法の改定と家畜飼養衛生管理基準の見直しが行われ、「農場バイオセキュリティ」の強化が打ち出されたが、空気伝播による病原体の感染防止対策については盛り込まれていない。

今までに口蹄疫ウイルス、オーエスキー病ウイルスおよび PRRS ウイルス等の伝播へのエアロゾルの関与が海外の研究で指摘されており (文献 1,2)、農場からのウイルス拡散距離や PRRSV の捕集フィルターによる侵入防止対策に関する報告がある。一方、媒介するエアロゾルの畜産における研究は作業者の健康という観点から欧州で 20 数年前に開始された。欧米では閉鎖型畜舎の型とエアロゾル濃度に関する事例報告が多数ある。しかし、病原微生物との関連を調査した報告はごく限られており、PCV2 とエアロゾル濃度の相関を示した報告があるのみである (文献 3)。我が国では申請者らがすでに開放型肥育豚舎内エアロゾル濃度、閉鎖型採卵鶏舎内の空气中浮遊一般生菌と空気力学径が 1.0 μm 以上 5.0 μm 以下のエアロゾルと相関があることを報告している (文献 4)。また、畜舎間での汚染空気伝播に関する風洞模型実験を行い、風による伝播の割合を報告した (文献 5)。また、予備的調査において、複数の養豚農場の離乳豚舎および肥育豚舎の空気材料において、一部の病原微生物については定性的な検出が可能であることを確認している。

### 2. 研究の目的

豚舎内の病原微生物とエアロゾルとの関連に関する知見はごく少なく、衛生環境改善に資するために、エアロゾルと病原微生物の動態を解明し、定量的な関係を明らかにする必要がある。そこで本研究は、疾病に罹患しやすい離乳ステージ (離乳豚舎) を対象に (1) エアロゾル濃度と空气中微生物濃度との関係、特に知見が少ない病原ウイルス濃度との関係を明らかにすること、(2) 計測が迅速なエアロゾル濃度を指標として空气中ウイルス濃度を検出するための簡易センサーの開発をすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) エアロゾル濃度と空气中微生物濃度との関係解明

福島県天栄村に位置する A 農場の折衷型離乳豚舎、栃木県大田原市に位置する B 農場の閉鎖型離

乳豚舎、茨城県銚田市に位置する C 農場の開放型離乳豚舎の計 3 箇所の商用農場の離乳豚舎を対象として、入舎から退舎までの期間、以下を測定した。舎内の温度湿度、エアロゾル個数濃度、一般生菌濃度、黄色ブドウ球菌濃度、大腸菌濃度。病原ウイルスとして、豚伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV)、豚コブウイルス (PKV)、豚アストロウイルス (PAstV)、豚エンテロウイルス B 型 (PEV-B)、豚サペロウイルス (PSV)、豚テシオウイルス (PTV)、豚アデノウイルス (PAstV)、ブタ繁殖呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV)、豚サイトメガロウイルス (PCMV) の検出と定量系を確立し、エアロゾル濃度との関係を検討した。

(2) 計測が迅速なエアロゾル濃度を指標として空气中ウイルス濃度を検出するための簡易センサーの開発

安価な LED 素子と受光素子を用いて光透過および光散乱理論を適用し、畜舎内の空間をできるだけ広範に検知できるセンサーを試作した。光源は赤色 LED (波長 [λ]: 625 nm) とした。

チャンバー試験によって、模擬エアロゾルを用いて、高精度パーティクルカウンターの出力と試作センサーの出力の相関を求め、空气中病原ウイルスが検知される時のエアロゾル濃度の検出が可能なるセンサーを検討した。

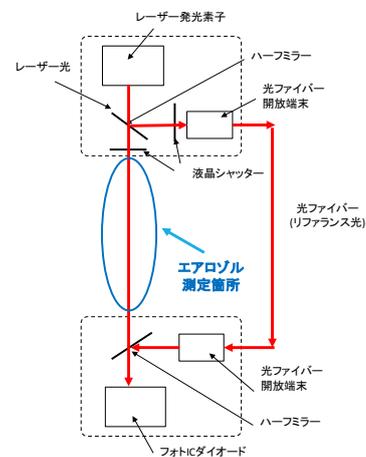


図1 光透過理論の簡易センサー

### 4. 研究成果

(1) エアロゾル濃度と空气中微生物濃度との関係解明

#### ① エアロゾル濃度と空气中細菌濃度

豚舎の構造 (開放型か閉鎖型)、季節によりエアロゾル濃度と空气中微生物濃度の相関が異なった。入舎から時間が経過するに従い濃度が高くなる傾向が見られた。光散乱径が 1.0~10.0 μm の範囲内で閉鎖型離乳豚舎は季節に関係なく、エアロゾル濃度と空气中微生物濃度に相関が見られた。しかし、開放型離乳豚舎では夏季では相関が見られなかったが、冬季では相関が見られた。これは、換気量が原因であり、夏季における開放型の換気量は一般的に大きいためであった。例として閉鎖型離乳豚舎の粒径別エアロゾ

ル濃度と空气中細菌濃度の時系列変化を図 2 に示す。

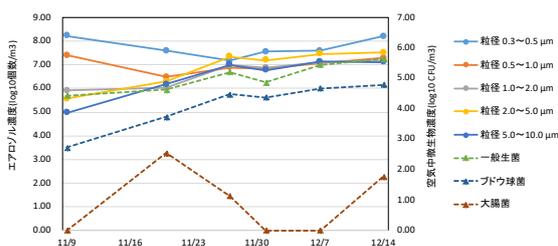


図 2 閉鎖型離乳豚舎のエアロゾル濃度と空气中微生物濃度の経時変化

全ての季節、豚舎をまとめると、光散乱径が 5.0 ~ 10.0 μm のエアロゾル濃度と、一般生菌、サルモネラ、大腸菌と相関が認められた (表 1)。

表 1 エアロゾル濃度と空气中細菌濃度の相関

一般生菌	$Y=0.82 A-0.03 (R^2=0.67)$
サルモネラ菌	$Y=1.23 A-3.39 (R^2=0.61)$
大腸菌	$Y=0.64 A-1.78 (R^2=0.43)$

A: エアロゾル濃度  $\log_{10}$ (個数 /  $m^3$ )

Y: 細菌濃度  $\log_{10}$ (CFU /  $m^3$ )

以上により、光散乱粒径が 5.0 ~ 10.0 μm のエアロゾル濃度を指標として、空气中細菌濃度を予測することが可能となる。細菌濃度は培養により測定するため、時間と手間がかかるが、エアロゾル濃度はリアルタイムでの測定が可能であるため、エアロゾル濃度を指標として、空气中細菌濃度を制御する可能性が期待された。

## ② 空气中病原ウイルス

全ての測定において検出されたウイルスと検出率は、表 2 の通りであった。ワクチンプログラムの影響もあり、検出されたウイルスに共通な点は、一般的に厳しい環境下で生存性が高いエンベロープがないウイルスで、糞便由来のウイルスであった。

表 2 2<sup>nd</sup>PCR による検出率

ウイルス	2 <sup>nd</sup> PCR 検出率 (%)
豚アストロウイルス	85.5
豚サペロウイルス	81.2
豚テシオウイルス	84.6
豚アデノウイルス	57.3
豚サイトメガロウイルス	35.0

検出率が高く、検出感度の良く、遺伝子定量解析に向いているウイルスとして豚サペロウイルス (PSV) を空気衛生指標のウイルスとして選定した。豚アストロウイルス、豚テシオウイルスよりも 1<sup>st</sup>PCR における検出率が高かったためであった。

PSV は、入舎から時間が経過すると検出される傾向を示した (図 3)。

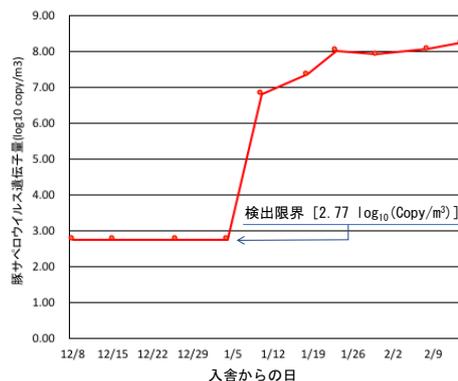


図 3 豚サペロウイルス濃度の経時変化

## ③ 空气中病原ウイルス濃度とエアロゾル濃度

空气中細菌濃度と相関が高かった光散乱粒径が 5.0 ~ 10.0 μm のエアロゾル濃度と PSV 濃度には明確な相関が認められなかった。しかしながら、光散乱粒径が 2.0 ~ 5.0 μm、5.0 ~ 10.0 μm の範囲のエアロゾル濃度が 5.07  $\log_{10}$  (個数/ $m^3$ ) 以上となると PSV の検出率が 70 % 以上になることから、このエアロゾル濃度を閾値として、PSV を検出することで、ウイルス制御の可能性が示唆された。この結果は、新規であり、離乳豚舎内の衛生環境を制御する方法として期待される。

(2) 計測が迅速なエアロゾル濃度を指標として空气中ウイルス濃度を検出するための簡易センサーの開発

「(1) エアロゾル濃度と空气中微生物濃度との関係解明」において、表 1 や ③ の結果の濃度範囲が検知できることが目標値となる。

### ① 光透過型

光透過型センサーはエアロゾル濃度が低い時に感知しにくく、検出感度を上げることにより標準試料噴霧後のエアロゾル濃度が高くなった際にセンサー出力の減少が見られなかった。

### ② 光散乱型

試作した光散乱型センサーを図 4 に示す。



図 4 試作した光散乱型簡易エアロゾルセンサー

Mie 理論によると、散乱光強度は光散乱角度 120° 前後で最小となり、光散乱角度が再び大きくなると光散乱強度が強くなる。この散乱光強度は粒子パラメーターのうち、粒径に依存する。そこで粒径毎に投光機と受光器の角度を変えて、高精度パーティクルカウンターの出力と試作センサーの出力の相関が最も高くなる角度を求めた (図 5)。最も相関が高くなった角度は 105° であった。

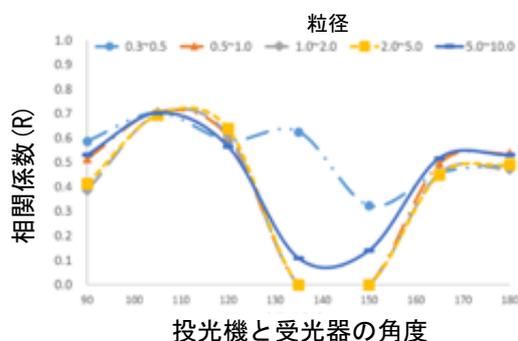


図 5 粒径別、光散乱角度別の相関係数

投光機と受光器のなす角度を 105° で設置すると (1) の節で相関が得られた細菌濃度や PSV の検出濃度を検知することが可能である。

今後このセンサーを基本的に実際の離乳豚舎に設置し、実用化に向けた試験を行う予定である。本センサーが完成すれば、豚舎内の空気衛生指標を制御要因とした新規な環境制御が可能になることが期待される。

〈引用文献〉

1. Burt, P. J. A. Airborne foot-and-mouth virus. *Weather*. 57 (5): 192-193. 2002.
2. Hermann, J.R, et al. Optimization of a sampling system for recovery and detection of airborne porcine reproductive and respiratory syndrome virus and swine influenza virus. *Applied and environmental microbiology*. Vol. 72(7): 4811-4818. 2006.
3. Verreault, D. et al. Airborne porcine circovirus in Canada swine confinement buildings. *Veterinary Microbiology*. 141: 224-230. 2010.
4. Ikeguchi, A., Ultra sonic sprayer controlling dust in experimental poultry houses, *CIGR E-journal Volume 4*, manuscript BC 01 002: 1-10. 2002.
5. Ikeguchi, A. and Okushima, L., Propagation and dispersion of contaminant air between enclosed forced ventilated scale model broiler buildings, *Journal of the Society of Agricultural Structures, Japan*, 40 (1): 35-46. 2009.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① 池口厚男、悪臭と疫病にかかわるエアロゾル(解説)ー畜産とエアロゾルとの関連ー、*養豚の友*、査読無し、553号、2015、34-38.
- ② 池口厚男、エアロゾル低減が臭気対策に(解説)、*養豚界*、査読無し、619号、2016、28-30.

[学会発表] (計 4 件)

- ① 名出貴紀・池口厚男・勝田賢・宮崎綾子、開放型乳牛舎及び閉鎖型乳牛舎のエアロゾル濃度と微生物濃度の関係、*農業環境工学関連 5 学会 2015 年合同大会*、C402、2015.
- ② Takanori Naide, A.Ikeguchi, A.Miyazaki, K.Katsuda, Effect of reducing concentration of picornaviridae, sapelo virus, porcine epidemic diarrhea virus and Escherichia coli with spraying functional water, *ASABE Annual International Meeting, New Orleans Marriott/New Orleans, LA*, Paper No. 152188871, 2015.
- ③ 名出貴紀、池口厚男、宮崎綾子、勝田賢、川島健司、豚舎内空気衛生指標となるウイルスの探索、*農業施設学会、2016 年度農業施設学会大会講演要旨*、2016、1-2.
- ④ 名出貴紀、池口厚男、山崎茂雄、畜舎内空気衛生環境改善に向けた簡易エアロゾルセンサーの開発、*農業施設学会、2017 年度農業施設学会大会講演要旨*、2017、71-72.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

- ① 講演会：池口厚男、「畜舎におけるエアロゾル」、豚病講習会、動物衛生研究所内講堂、2015.
- ② 研修会：池口厚男、平成 27 年度研究人材活性化事業研究推進支援研修、神奈川県畜産技術センター、2015.

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

池口厚男 (IKEGUCHI, Atsuo)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号：10222415

(2) 研究分担者

勝田 賢 (KATSUDA, Ken)

(国) 農研機構・動物衛生研究領域・主席

研究員

研究者番号： 40355160

宮崎 綾子 (MIYAZAKI, Ayako)

(国)農研機構・動物衛生研究部門・主任研究員

研究者番号： 30355169

中久保 亮 (NAKAKUBO, Ryo)

(国)農研機構・畜産研究部門・主任研究員

研究者番号： 20585319

川畷 健司 (KAWASHIMA, Kenji)

(国)農研機構・動物衛生研究領域・主席研究員

研究者番号： 50355161

(3)連携研究者

(4)研究協力者