

9 強力超音波を利用した牛白血病対策技術の基礎検討

長谷川浩治, 問山清和, 舟木敬二, 山本祐輔*, 日高健雅*, 森本和秀*

Study on eradication method of bovine leukemia using high power ultrasonic

HASEGAWA Koji, TOIYAMA Kiyokazu, FUNAKI Keiji, YAMAMOTO Yusuke*,
HIDAKA Takemasa* and MORIMOTO Kazuhide*

Recently, the number of cows affected by bovine leukemia is on the increase in Japan. The dairy farmers are facing heavy economic losses by it. Therefore, it is very important problem for dairy farmer to eradicate bovine leukemia. The bovine leukemia is caused by a virus existing in the leukocyte. Therefore the virus is inactivated when the leukocyte cell membrane is broken. We tried to decrease leukocyte by ultrasonic cavitation method. As our conclusions, the leukocyte count was decreased by the cavitation impact force. The decreasing rate of leukocyte was almost in proportion to the amount of supplied ultrasonic power.

キーワード：牛白血病, 超音波, キャビテーション, 白血球

1 緒 言

牛白血病は、レトロウイルスの感染により起こり、血液中の白血球が腫瘍化する牛特有のウイルス性疾病で、家畜伝染病予防法で届出伝染病に指定されている。感染から発症までの潜伏期間は1年から8年と長く、感染しても殆どが無症状であり、感染牛の数%が発症するに過ぎない。しかしながら、現在有効な治療法がなく、発症すれば必ず死に至り、酪農家の経済的損失が大きい。また、牛白血病感染牛は、キャリアーとして他の正常牛への感染源となるため、早期の摘発・淘汰が推奨されるが、その対策は進んでいないのが現状である。牛白血病の感染率及び発症数は全国及び県内においても年々増加傾向にある。今後は、さらなる被害の拡大も危惧され、効果的な防除対策が望まれている¹⁾。この病気の感染経路は、大きく分けて以下の3通りがある。

- ・母乳を介して子牛に感染する経乳感染
- ・妊娠中の母牛から子牛に感染する胎盤感染
- ・アブ等の吸血昆虫による水平感染

生まれたての子牛には、病気に対する抵抗力を付けるために、生後すぐに母牛の初乳を飲ませることが望ましい。現在、経乳感染を防ぐ技術としては、乳汁中の牛白血病ウイルスを不活化させる目的で乳汁を冷凍する方法や加温する方法が製品化されている。しかしながら、これらの方法は、処理に時間を要する欠点があり、短時間化が望まれている。

本研究では、経乳感染の経路を対象とした牛白血病対策として、短時間で初乳中の牛白血病ウイルスを不活化

させる乳汁処理技術の基礎的検討を行った。

乳汁処理方法としては、熱的変化が少なく処理時間の短縮が見込まれる超音波を利用した白血球の物理的破壊方法を検討した。本稿では、超音波発生装置の試作と、その装置を用いた血液中の白血球破壊実験について報告する。

2 牛白血病対策技術

牛白血病は、ウイルス性の疾病である。そのため、このウイルスを不活化することで感染を防ぐことができる。研究対象とする経乳感染では、牛白血病ウイルスは、乳汁中の白血球に存在する。そのため、白血球の細胞膜が壊されることで不活化することが予想される。そこで、超音波を活用し乳汁中にキャビテーションを発生させ、それが消失する際に発生する強力な衝撃力により、白血球の細胞膜を破壊させる方法を検討した。免疫力の付与のために生まれてすぐに初乳を与えることを想定し、10ℓの初乳を10分間で処理することを目標とした。

3 乳汁処理装置の試作

液体中に強力な超音波を照射しキャビテーションを発生させる乳汁処理装置を試作した。その概観を写真1に示す。試作装置は、超音波信号発生装置と、その信号を振動として伝える振動子およびホーンにより構成される。ホーンはアルミニウム合金(A6061)を用いて、直径50mm、長さ128mmの円柱の中央部に固定用のフランジを

*畜産技術センター

取り付けした形状とし、20kHz の振動で共振するように設計した。ホーンをボルト締めランジュバン振動子（本多電子(株)製 HEC5020P4B 20kHz 用）にボルトと接着剤で連結した。

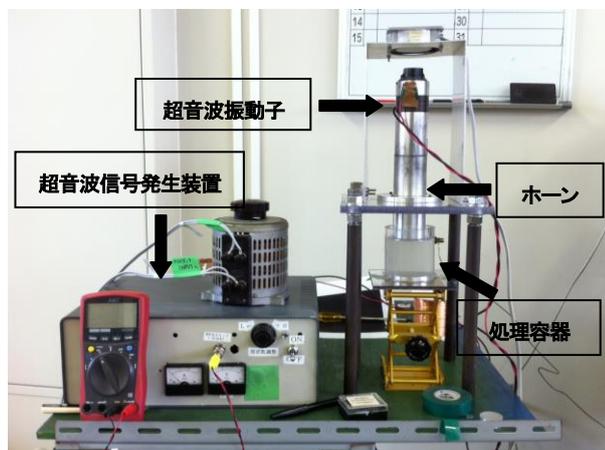


写真1 乳汁処理装置の概観

超音波信号発生装置の回路構成を図1に示す。この駆動回路は、超音波振動子の共振周波数20kHzの矩形波信号を増幅させ、300W程度の出力が得られるよう調整したアンプ²⁾となっている。駆動回路からの発振信号を振動子に伝えてホーンを共振させ、ホーン先端部で大きな振幅が得られる仕組みである。

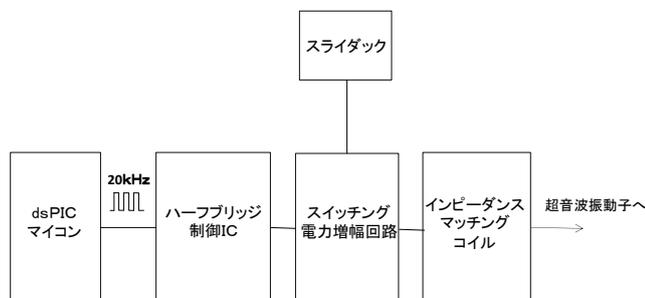


図1 超音波信号発生装置の回路構成

4 実験方法

4.1 白血球および赤血球破壊実験

本来の処理対象は乳汁中の白血球である。しかし、乳汁中には白血球の数が少ないため、血球数の測定が困難である。そこで、生理食塩水を用いて希釈した牛の血液を用いて実験した。試作装置のホーン先端部を処理容器内の希釈した血液に漬けて、20kHz の超音波を印加して、血液中にキャビテーションを発生させた。投入電力を一定にしてサンプルを採取し、白血球及び赤血球の数を全

自動血球計数機（(株)メディカルスペース VetScanHM2）で測定し血球数の経時変化を調べた。

4.2 免疫機能の維持確認

超音波によるキャビテーションを乳汁中に発生させることで、乳汁の免疫機能が失われる可能性がある。そのため、免疫グロブリンによる免疫機能の維持を確認する試験をした。試験方法は、生理食塩水を用いて希釈した血漿中にキャビテーションを発生させ、一分間隔でサンプルを採取し、一元放射免疫拡散法（(株)メタボリックエコシステム エコステック）により免疫機能の維持について確認した。

5 結果と考察

血液中の赤血球は、白血球より壊れやすく、壊れると黒く変色する。写真2に示すとおり、超音波を照射すると血液は黒ずみ、その効果を目視で確認できた。



写真2 超音波処理前後の血液

5.1 白血球の破碎と投入電力の関係

図2に、処理前の血球数で正規化した白血球及び赤血球数と処理時間の関係を示す。生理食塩水を用いて1:1に希釈した牛の血液1ℓを用い、装置の投入電力を56Wとした。白血球及び赤血球数は処理時間とともに減少した。

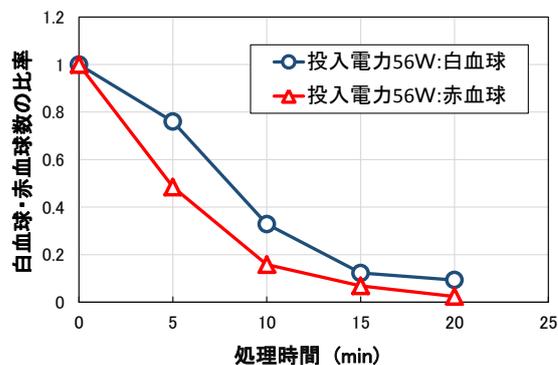


図2 血球数と処理時間の関係

次に、装置の投入電力を 150 W、210 W、320 W とした場合の白血球数の経時変化を **図 3** に示す。生理食塩水を用いて 1 : 3 に希釈した牛の血液 1 ℓ を用いた。投入電力が大きいくほど、白血球数が早く減少することがわかる。

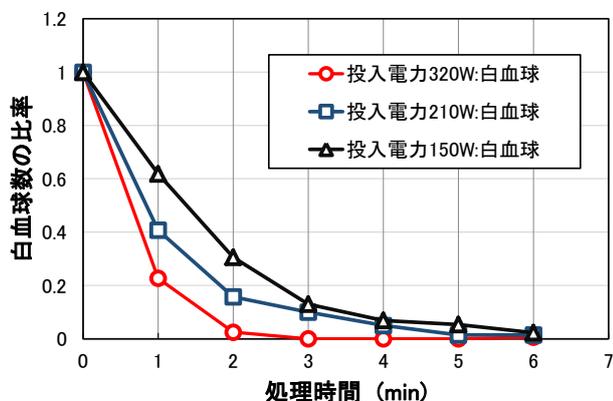


図 3 投入電力と白血球数の関係

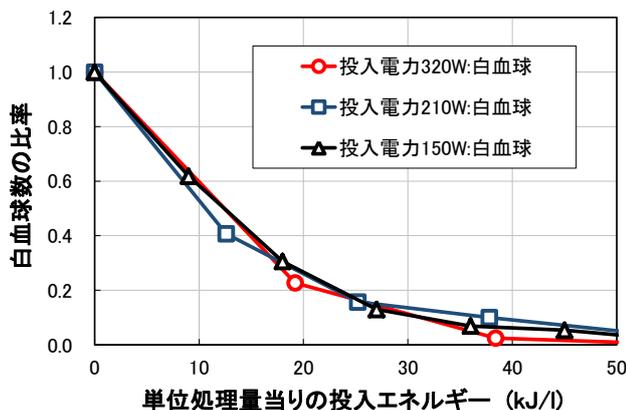


図 4 投入エネルギーと白血球数の関係

単位処理量 1 ℓ あたりの投入エネルギーと白血球数の関係を **図 4** に示す。今回の投入電力の範囲 (150 ~ 320W) では、白血球の減少率は投入エネルギーに対し、ほぼ一つの関係式として整理できる。これより、投入エネルギー 28kJ/ℓ 以上で 90%以上の白血球が死滅すると推測される。これは、320 W の投入電力で、10ℓ を 14 分程度で処理できることになる。

5.2 免疫機能維持の確認

生理食塩水で 1 : 15 に希釈した血漿 1 ℓ 中にキャビテーションを照射して免疫機能が維持されているか確認した。実験状況を **写真 3** に、結果を **図 5** に示す。グロブリンの比率は処理前のグロブリン量により正規化している。投入電力は 320 W でキャビテーションを照射した。グロブリン量は、キャビテーション照射前後で殆ど変化はなく、免疫機能が維持されていることを確認できた。



写真 3 免疫機能確認の実験状況

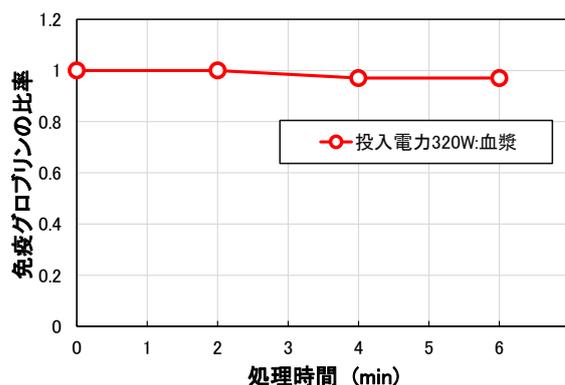


図 5 免疫グロブリンによる免疫機能の確認

6 結 言

超音波を用いた乳汁処理装置を試作し、牛の血液中の白血球の破壊実験を行い、以下の知見を得た。

(1) 投入電力が大きいくほど、白血球を破壊するために必要な時間は短くなる。

(2) 90%の白血球の減少を見込む場合、10ℓ の処理液に対し、320W の投入電力で約 14 分の処理時間が必要である。

(3) 処理量 1 ℓ あたりの投入エネルギーが 115kJ 以下では免疫グロブリンの機能は維持される。

今後の課題としては、10 分間で 10ℓ の処理量を達成するための高出力化や並列処理化が挙げられる。ただし、高出力化には、ホーン自体に発生するエロージョンの対策も必要になると考えられる。

文 献

- 1) 今内他：産業動物臨床医学雑誌，Vol.1 (2010) No.2 p. 110-114
- 2) パワー・エレクトロニクス回路の設計，CQ 出版社，(2007, 4)

