UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE
WYDZIAŁ BIOINŻYNIERII ZWIERZĄT

ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr inż. Sara Dzik

Nr albumu: 1356

Ocena skuteczności środka dezynfekcyjnego zawierającego permetrynę, ultramarynę i fiolet 23 w budynku dla kurcząt brojlerów

Rozprawa doktorska wykonana
w Katedrze Higieny Zwierząt i Środowiska
Promotor: dr hab. Tomasz Mituniewicz, prof. UWM

Olsztyn, 2022

UNIVERSITY OF WARMIA AND MAZURY IN OLSZTYN
FACULTY OF ANIMAL BIOENGINEERING

PHD THESIS

Sara Dzik, MSc

Student no.: 1356

Evaluation of the efficacy of a disinfectant containing permethrin, ultramarine and violet 23 in broiler chicken house

Dissertation thesis performed
in the Department of Animal and Environmental Hygiene
Supervisor: Tomasz Mituniewicz, DSc

Olsztyn, 2022

Podstawę dysertacji stanowią następujące prace naukowe:

1. Mituniewicz T., **Dzik S.** Characteristics of lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Medycyna Weterynaryjna 2020, 76(3): 145-149, https://doi.org/10.21521/mw.6376 (IF: 0.398, 70 pkt.).
2. **Dzik S**., Mituniewicz T. Effectiveness of biocidal paint containing permethrin, ultramarine and violet 23 against *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in laboratories and poultry houses. Animals 2020, 10(9): 1461, https://doi.org/10.3390/ani10091461 (IF: 3.231, 100 pkt.).
3. **Dzik S.**, Mituniewicz T., Beisenov A. Efficacy of a biocidal paint in controlling *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) and improving the quality of air and litter in poultry houses. Animals 2022, 12(10): 1264, Special Issue: Housing and Environment Control Systems in Poultry Production, https://doi.org/10.3390/ani12101264 (IF: 3.231, 100 pkt.).
4. **Dzik S.**, Mituniewicz T., Załuski D. The effect of a biocidal paint as a disinfectant and disinsectant on the growth performance and blood biochemical parameters of broiler chickens. Animal Science and Genetics (kontynuacja czasopisma Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego) 2022, 18(3): 25-41, https://doi.org/ 10.5604/01.3001.0015.9870 (70 pkt.).

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW 5
1. UZASADNIENIE PODJĘTYCH BADAŃ 6
2. ZAKRES BADAŃ, HIPOTEZA BADAWCZA I CEL PRACY 10
2.1.Zakres badań 10
2.2.Hipoteza badawcza 10
2.3.Cel pracy 10
3. MATERIAŁ I METODY 13
3.1.Czynnik doświadczalny 13
3.2.Warunki utrzymania ptaków w kurnikach podczas doświadczenia 14
3.3.Zadania badawcze 15
3.4.Analiza statystyczna 19
4. OMÓWIENIE NAJWAŻNIEJSZYCH WYNIKÓW BADAŃ 21
4.1.Monitoring obecności *A. diaperinus* 21
4.1.1. Śmiertelność *A. diaperinus* 21
4.1.2. Rozmieszczenie *A. diaperinus* w kurnikach 23
4.2.Analizy mikrobiologiczne 25
4.3.Warunki mikroklimatyczne oraz podstawowe parametry fizykochemiczne ściółki 29
4.4.Wyniki produkcyjne 30
4.5.Wybrane wskaźniki biochemiczne krwi 32
5. WNIOSKI 36
6. PIŚMIENNICTWO 38
STRESZCZENIE 53
SUMMARY 56
ZAŁĄCZNIKI 59

WYKAZ SKRÓTÓW

A. diaperinus – *Alphitobius diaperinus*, pleśniakowiec lśniący

ALT – aminotransferaza alaninowa

ANOVA – analiza wariancji

ANOVA Friedmana – analiza wariancji powtarzanych pomiarów dla rang Friedmana (*Friedman repeated measures analysis of variance by ranks*)

AST – aminotransferaza asparaginianowa

Bp – grupa Bp, w której zastosowano farbę biobójczą

EBI – Europejski Wskaźnik Wydajności

EC – *European Commission,* Komisja Europejska

FCR – współczynnik zużycia paszy

GGT – gamma-glutamylotransferaza

L – grupa L, w której zastosowano wapnowanie

NH_3 – amoniak

pH – miara kwasowości lub zasadowości, która wskazuje ilość jonów wodorowych obecnych w roztworze lub substancji

PP – długość cyklu produkcyjnego

Test API – *Analytical Profile Index*, test biochemiczny

SEM – standardowy błąd pomiaru

UE – Unia Europejska

vs. – *versus* (w stosunku do)

1. UZASADNIENIE PODJĘTYCH BADAŃ

Światowa produkcja drobiarska dynamicznie rozwija się od wielu lat (Windhorst, 2007; Iisa i Ruchira, 2015; Mottet i Tempio, 2017; Biesek i in., 2020). Obserwuje się zarówno rosnący popyt na mięso drobiowe, jak i wzrost wielkości produkcji (Kozioł i Krzywoń, 2014). Chociaż zakłada się, że wzrost ten nie będzie tak dynamiczny, jak do tej pory, to jednak prognozy długoterminowe dla producentów drobiu są nadal optymistyczne (EC, 2019). W związku z tym, producenci mięsa drobiowego mogą liczyć na dalszy wzrost produkcji (van Limbergen i in., 2020), jakkolwiek będzie on zdecydowanie na znacznie niższym poziomie, niż notowany w ciągu ostatnich 10 lat. Popularność mięsa drobiowego wśród konsumentów wynika z tego, iż charakteryzuje się ono dobrą jakością i relatywnie korzystną ceną, w porównaniu z innymi gatunkami mięsa. Dodatkowo cykl produkcyjny (zwłaszcza kurcząt brojlerów) jest krótki, co umożliwia zarazem intensywną i częstą produkcję (Biesek i in., 2020; Wahyono i Utami, 2018).

Nieustannie zwiększająca się konsumpcja mięsa drobiowego, wiąże się z koniecznością podejmowania szeregu działań w celu utrzymania wysokiej produkcyjności kurcząt brojlerów i dobrej zdrowotności stada. Jednakże jest to działanie trudne i pomimo licznych badań naukowych, ochrona ptaków przed infekcjami podczas odchowu stanowi nadal poważny problem w produkcji (Battersby i in., 2017). Za główne źródła zagrożenia uznaje są: pracowników (Ridley i in., 2011), sprzęt do obsługi zwierząt (Battersby i in., 2016), inne zwierzęta gospodarskie oraz najbliższe otoczenie wokół budynku inwentarskiego (Ogden i in., 2014) w tym: owady (np. *Alphitobius diaperinus*), które nie są często odbierane jako zagrożenie (Huber i in., 2007), gryzonie (Cavia i in., 2019) i dzikie ptactwo.

W celu zapewnienia bezpieczeństwa biologicznego na fermie, kluczowe są działania zapobiegawcze, które obejmują przede wszystkim zabiegi higieniczne (de Castro Burbarelli i in., 2017). Jakkolwiek zidentyfikowano wiele zakaźnych i niezakaźnych czynników ryzyka, które powodują spadek wydajności i wzrost śmiertelności u brojlerów (Jones i in., 2018), to pomimo postępu w zapobieganiu i zwalczaniu chorób, nadal trudno jest utrzymać komercyjny zakład drobiarski całkowicie wolny od chorób – w tym chorób zakaźnych. Dlatego dużą wagę należy przykładać do czynności związanych z zapewnieniem odpowiedniej higieny na fermie (de Castro Burbarelli i in., 2016).

Na rynku dostępna jest szeroka gama różnych środków umożliwiających utrzymanie odpowiednich warunków higienicznych na fermach drobiu. Ważne, aby były one bezpieczne

dla ludzi oraz dla ptaków – nie powodowały spadków produkcji i nie pogarszały ich statusu zdrowotnego. Dlatego też niezbędna jest dokładna znajomość biologii i zachowania owadów, których populację należy ograniczyć w kurnikach dla brojlerów kurzych (przede wszystkim *A. diaperinus*) (**Mituniewicz i Dzik, 2020 – artykuł 1**). Konieczne są także analizy oceniające skuteczność środków higienicznych nie tylko w warunkach laboratoryjnych, ale również w produkcyjnych (**Dzik i Mituniewicz, 2020 – artykuł 2; Dzik i in., 2022 – artykuł 3**), a także ich wpływ na użytkowość i zdrowie ptaków (**Dzik i in., 2022 – artykuł 4**).

Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), znany również jako pleśniakowiec lśniący, jest owadem, który posiada zdolność do bytowania i rozmnażania się w środowisku przekształconym przez człowieka, w tym na fermach drobiu (Huber i in., 2007; Hess i in., 2008; Roche i in., 2009) zwłaszcza, gdy ptaki utrzymywane są na ściółce słomiastej (Lambkin, 2005; Chernaki-Leffer i in., 2007). *A. diaperinus* uważany jest za szkodnika, gdyż może wgryzać się w ciało chorych (Huber i in., 2007) oraz odpoczywających kurcząt (Savage, 1992; Salin, 2000) i żerować pod ich skórą, powodując tym samym znaczące obniżenie ich komfortu. W sytuacji takiej kurczęta zmuszone są do przebywania w ciągłym ruchu, czego skutkiem mogą być zmniejszone przyrosty masy ciała (Savage, 1992; Salin, 2000). Ponadto, u kurcząt spożywających paszę wraz z bytującym w niej *A. diaperinus* (Despins i Axtell, 1995), może dojść do problemów związanych z trawieniem pokarmu. Wynika to z tego, że ptaki cechuje ograniczona aktywność chitolityczna w przewodzie pokarmowym (niedobór enzymu odpowiedzialnego za trawienie chityny, którą pokryte są owady) (Suzuki i in., 2002; Koh i Iwamae, 2013; Khan i in., 2016). Jak podają Khempaka i in. (2006) strawność chityny u kurcząt brojlerów kształtuje się na poziomie 18-24%. W konsekwencji może dojść do wzmożonego wydzielania soków trawiennych, wzrostu łaknienia, obniżenia pH przewodu pokarmowego oraz niedrożności jelit (Singh, 2011).

A. diaperinus może żerować także na pomiocie kurzym i innej materii organicznej. Ponadto, owad ze względu na synantropijny charakter, doskonale przystosował się do bytowania w środowisku przekształconym przez człowieka. W związku z tym, może szybko rozmnażać się i tworzyć liczne populacje, powodując uciążliwość również dla ludzi np. poprzez migrację do domów i innych obiektów znajdujących się w pobliżu kurników (Rumbos i in., 2018).

A. diaperinus jest wektorem i rezerwuarem wielu patogenów drobiu (Kaufmann i in., 2005; Rice i in., 2009), w tym bakterii (np. *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp.,

Staphylococcus spp., *Escherichia coli*), grzybów (*Aspergillus* spp., *Candida* spp.), pierwotniaków (*Eimeria* spp.) i innych pasożytów drobiu (*Hymenolepis nana*), a także wirusów (wywołujących: chorobę Marka, chorobę Gumboro, rzekomy pomór drobiu, grypę ptaków) (Singh, 2011). *A. diaperinus* może wyrządzać również szkody w obiektach dla drobiu – niszcząc konstrukcje budowlane i warstwę termoizolacyjną, powodując tym samym straty ekonomiczne (Kaufmann i in., 2005; Huber i in., 2007).

Monitorowanie bezpieczeństwa produktów spożywczych jest niezbędne już na etapie produkcji podstawowej (Crump i in., 2002), nie tylko ze względu na szkodliwość *A. diaperinus*. Mięso drobiowe zostało uznane za jeden z głównych nośników patogenów wśród produktów pochodzenia zwierzęcego (Scallan i in., 2011; Alali i Hofacre, 2016; EFSA, 2021), a bezpieczeństwo żywności jest priorytetem zarówno dla konsumentów, jak i producentów (Alali i Hofacre, 2016). W obszarach intensywnej produkcji zwierzęcej powietrze jest zanieczyszczone wysokimi stężeniami mikroorganizmów, głównie bakteriami (Lee i in., 2006; Vučemilo i in., 2007; Bródka i in., 2012). Aerozole bakteryjne najczęściej składają się z gronkowców i paciorkowców oraz licznych drobnoustrojów gram-dodatnich i gram-ujemnych (Vučemilo i in., 2007; Oppliger i in., 2008; Witkowska i Sowińska, 2013). Zanieczyszczenia mikrobiologiczne w obiektach dla drobiu są zdeterminowane przez parametry mikroklimatu, ale również przez właściwości fizykochemiczne ściółki. Należy mieć na względzie, iż kurczęta brojlery na fermach drobiu pozostają w kontakcie ze ściółką przez cały okres odchowu. Wobec tego niezbędne jest zachowanie jej odpowiedniej jakości (Lopes i in., 2013). Czynniki takie jak temperatura, wilgotność oraz pH ściółki wpływają na liczebność i aktywność mikroorganizmów, zarówno w samej ściółce, jak i w powietrzu (Fries i in., 2005; Witkowska i in., 2010; Wójcik i in., 2010). Z kolei, niewłaściwe postępowanie ze ściółką czy nieodpowiednia wentylacja pomieszczeń, mogą pogarszać jej jakość (Bodi i in., 2013). Ponadto, wysokie pH ściółki może znacznie przyspieszyć rozkład kwasu moczowego do amoniaku (NH_3), który jest związkiem toksycznym (Al Homidan i in., 2003).

Ze względu na zagrożenia środowiskowe i epidemiologiczne, ważne jest ciągłe monitorowanie i kontrola mikroorganizmów oraz ich wektorów w środowisku bytowania kurcząt brojlerów. Dlatego też skuteczna dezynfekcja (Nechyporenko i in., 2018) i dezynsekcja (Dzik i Mituniewicz, 2020) są kluczem do pomyślnego funkcjonowania nowoczesnych ferm drobiu i zachowania bezpieczeństwa produktów drobiowych. Są to niezbędne metody kształtowania warunków higienicznych, a szczególnego znaczenia nabierają w intensywnej produkcji zwierzęcej (Kołacz i Dobrzański, 2019). Prawidłowe

wykonanie wszystkich etapów procedury dezynfekcji i dezynsekcji oraz stosowanie odpowiednich środków jest nieodzownym działaniem profilaktycznym oraz istotnym podczas zwalczania chorób odzwierzęcych i zwierzęcych (Dzik i Mituniewicz, 2020; Maertens i in., 2018).

2. ZAKRES BADAŃ, HIPOTEZA BADAWCZA I CEL PRACY

2.1. Zakres badań

W **artykule 1** (praca przeglądowa), w celu wprowadzenia do tematyki dotyczącej *A. diaperinus,* dokonano krytycznego przeglądu literatury. W oparciu o zgromadzone dane opisano istotę problemu występowania owada w produkcji drobiarskiej, jego biologię, szkodliwość, metody zwalczania.

W **artykule 2** (praca oryginalna) analizowano skuteczność farby biobójczej zastosowanej w kurniku, jako środek dezynfekcyjny działający również owadobójczo, przeciwko *A. diaperinus*. Ograniczanie liczebności owada w produkcji drobiarskiej jest zadaniem uzasadnionym i jednocześnie trudnym do wykonania. Należy jednak podejmować próby zwalczania *A. diaperinus*, gdyż stanowi poważne zagrożenie dla życia i zdrowia kurcząt, a także pracowników ferm.

W **artykule 3** (praca oryginalna) oceniano, poprzez kontrolę rozmieszczenia owadów w kurniku, czy farba biobójcza może okazać się skuteczna w monitoringu obecności *A. diaperinus*. Analizowano także czy jest to efektywny środek dezynfekcyjny oraz czy wpłynie on na parametry mikroklimatu budynku i podstawowe parametry fizykochemiczne ściółki.

W **artykule 4** (praca oryginalna) sprawdzono czy zastosowana farba biobójcza, jako środek dezynfekcyjny zawierający w swym składzie również substancje owadobójcze, oddziałuje na parametry produkcyjne kurcząt brojlerów oraz wybrane wskaźniki biochemiczne krwi.

Rozprawa doktorska została zrealizowana dzięki uzyskaniu dotacji finansowanej przez Ministra Edukacji i Nauki w zakresie programu pn. „Regionalna Inicjatywa Doskonałości" na lata 2019-2022, nr projektu 010/RID/2018/19, kwota dofinansowania 12.000.000 zł, a także w wyniku odbywania stażu praktycznego na fermie drobiu oraz stażu naukowo-dydaktycznego w Kazakh National Agrarian Research University, Ałmaty, Kazachstan współfinansowanych przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego (Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój), zrealizowanego w projekcie Program Rozwojowy Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (POWR.03.05.00-00-Z310/17).

2.2. Hipoteza badawcza

Przyjęto założenie, że zastosowanie w budynkach dla kurcząt brojlerów środka dezynfekcyjnego w postaci farby biobójczej, zawierającej w swoim składzie aktywne substancje owadobójcze:

- ograniczy liczebność populacji *A. diaperinus* (larw i imago), a także dzięki właściwościom owadobójczym umożliwi kontrolę nad owadem poprzez monitorowanie jego obecności w pułapkach – założono, że na skutek działania owadobójczych składników aktywnych (repelent optyczny) obecność *A. diaperinus* będzie notowana w pułapkach umieszczonych dalej od ścian pomalowanych farbą biobójczą;
- zmniejszy zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza i ściółki, a także poprawi warunki mikroklimatyczne w kurniku i podstawowe parametry fizykochemiczne ściółki;
- nie wpłynie negatywnie na parametry odchowu ptaków oraz wybrane wskaźniki biochemiczne krwi;
- jest skuteczniejszą metodą niż wapnowanie;
- jako długookresowy środek biobójczy może być zalecany do stosowania w kurnikach dla brojlerów.

2.3. Cel pracy

Celem badań była kompleksowa ocena możliwości zastosowania w obiektach drobiarskich farby biobójczej, będącej nośnikiem przeciwdrobnoustrojowych i owadobójczych substancji aktywnych, jako długookresowego środka dezynfekcyjnego i dezynsekcyjnego. Wobec tego, sprecyzowano następujące cele szczegółowe:

- oceniano wpływ farby biobójczej (substancje owadobójcze) na liczebność *A. diaperinus* (larw i imago); ponadto, oceniano czy jako długookresowa metoda zwalczania owada będzie efektywna podczas trwania całego okresu doświadczenia;
- oceniano czy istnieje możliwość kontroli owada poprzez monitorowanie jego obecności w rozstawionych w kurniku pułapkach;
- oceniano czy zastosowanie farby biobójczej (substancje przeciwdrobnoustrojowe), zmniejszy zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza i ściółki, a także poprawi

warunki mikroklimatyczne w kurniku oraz podstawowe parametry fizykochemiczne ściółki;

- oceniano wpływ farby biobójczej i wapnowania na parametry odchowu ptaków oraz wybrane wskaźniki biochemiczne krwi;
- porównano także czy jest to metoda skuteczniejsza w utrzymaniu higieny w kurniku niż wapnowanie.

3. MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie stanowiło rutynową procedurę higieniczną przeprowadzoną w gospodarstwie produkcyjnym. W związku z tym, zgodnie z obowiązującą ustawą z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych (Dz. U. z 2021, poz. 1331 z późn. zm.), nie była wymagana zgoda Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach, ponieważ w badaniu nie stosowano żadnych zabiegów, w tym medycznych, inwazyjnej diagnostyki ani procedur powodujących dyskomfort psychiczny zwierząt. Ponadto, doświadczenie przeprowadzono zgodnie z prawem unijnym, gdyż ww. ustawa w zakresie swojej regulacji wdraża dyrektywę Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych (Dz. Urz. UE L 276 z 20.10.2010, str. 33, z późn. zm.).

Eksperyment powtarzany był 3 razy tzn. analizy wykonywano w 3 cyklach produkcyjnych (określane dalej jako: **doświadczenie I**, **doświadczenie II**, **doświadczenie III**). Część produkcyjną przeprowadzono na wielkotowarowej fermie drobiu zlokalizowanej w województwie pomorskiem. Analizy laboratoryjne wykonano w Laboratorium Katedry Higieny Zwierząt i Środowiska, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, w Laboratorium Analitycznym Szpitala Miejskiego w Olsztynie posiadającym certyfikat ISO 9001:2000, Nr 134B-2002-AQ-GDA-RvA, a także w Zakładzie Higieny Weterynaryjnej w Olsztynie (akredytowanym przez Polskie Centrum Akredytacji – nr akredytacji AB 604).

3.1. Czynnik doświadczalny

Czynnikiem różnicującym grupy doświadczalne był zabieg higieniczny. W jednym kurniku (**grupa L**) zastosowano tradycyjny zabieg dezynfekcji: mycie, zamgławianie oraz malowanie ścian i podłogi mlekiem wapiennym (300 ml/m^2) za pomocą agregatu hydrodynamicznego (Faska Sp. z o.o., Fabianki, Polska). Wapnowanie stosowano 7 dni przed każdym cyklem produkcyjnym. W drugim kurniku (**grupa Bp**) ściany, podłogę oraz sufit pomalowano białą farbą biobójczą do malowania pomieszczeń dla zwierząt gospodarskich (Kleib Sp. z o.o., Brześć Kujawski, Polska) z użyciem agregatu hydrodynamicznego (400 ml/m^2). Farbę biobójczą zastosowano tylko raz podczas trwania doświadczenia – 7 dni przed pierwszym analizowanym cyklem produkcyjnym. Farba posiada atest higieniczny wydany przez Państwowy Zakład Higieny w Warszawie (nr

HK/B/0571/01/2016) oraz patent wydany przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej (nr 232978). Innowacyjność farby biobójczej polega na tym, że może być zastosowana jako środek dezynfekcyjny, który jednocześnie wykazuje również działanie owadobójcze, co jest efektem działania substancji aktywnych zawartych w składzie:

a) substancje przeciwdrobnoustrojowe

– pirytionian cynku (0,12% wagowych) – w przeciwieństwie do innych składników przeciwdrobnoustrojowych zawierających srebro i miedź, te oparte na cynku mają szerokie spektrum działania oraz wykazują wysoką skuteczność w hamowaniu wzrostu grzybów (Reeder i in., 2011; Blanchard i in., 2016; Schwartz i in., 2016; Abd Ali i in., 2021);
– 1,2-benzizotiazol-3(2H)-on (0,05% wagowych) – popularna substancja przeciwbakteryjna (Borgna i in., 1996; Di Martino, 2020);

b) aktywne substancje owadobójcze

– permetryna (0,04% wagowych) – jest syntetycznym insektycydem z grupy pyretroidów, powszechnie stosowanym przeciwko wielu owadom (Bissinger i in., 2011; Fankhauser i in., 2015; PubChem, 2020); jest trucizną żołądkową (oddziałuje na owady, gdy jest przez nie zjadana), ale także trucizną kontaktową – działa poprzez bezpośredni kontakt z docelowymi szkodnikami; insektycyd ten uszkadza układ nerwowy owadów, w wyniku czego może dojść do porażenia i paraliżu, a następnie do śmierci; wykazuje skuteczność w zwalczaniu jaj, larw, poczwarek i imago (Hartely, 1983); ponadto pyretroidy są zalecane do stosowania przeciwko owadom (o ile nie potwierdzono oporności) ze względu na ich szybkie działanie i wysoką skuteczność owadobójczą przy niskich dawkach (Zaim i in., 2000; Mosqueira i in., 2010a i 2010b);
– mieszanina ultramaryny i fioletu 23 (0,004% wagowych)– niektóre chrząszcze mają fotoreceptory wrażliwe na światło niebieskie lub fioletowe (Sharkey i in., 2017); poprzez dodanie do farby niebieskiego (ultramaryna) i fioletowego pigmentu (fiolet 23), może ona stanowić skuteczny środek odstraszający (repelent optyczny) (PubChem, 2020).

3.2. Warunki utrzymania ptaków w kurnikach podczas doświadczenia

W każdym z trzech przeprowadzonych doświadczeń utworzono 2 grupy doświadczalne (L i Bp), a każdą z nich stanowił kurnik z pełną obsadą kurcząt brojlerów

ROSS 308 (20 500 ptaków). Kurczęta odchowywano na ściółce ze słomy żytniej, o grubości warstwy około 15 cm, bez dościelania przez cały okres odchowu (40 dni). Po zakończeniu odchowu ze wszystkich budynków usuwano ściółkę i całą materię organiczną, a następnie następował okres mycia, dezynfekcji i odpoczynku budynku. W trakcie trwania doświadczenia (423 dni) w kurnikach było siedem cykli produkcyjnych. Badania przeprowadzono podczas pierwszego, trzeciego i siódmego cyklu produkcyjnego (Tab. 1).

Tabela 1. Schemat zastosowania wapnowania i farby biobójczej podczas całego doświadczenia

Doświadczenie (423 dni)	**Grupa**	
	L	**Bp**
I (1-40 dzień)	Wapnowanie zastosowano 7 dni przed 1 cyklem produkcyjnym	Farbę biobójczą zastosowano tylko raz – 7 dni przed 1 cyklem produkcyjnym
II (190-230 dzień)	Wapnowanie zastosowano 7 dni przed 3 cyklem produkcyjnym	
III (383-423 dzień)	Wapnowanie zastosowano 7 dni przed 7 cyklem produkcyjnym	

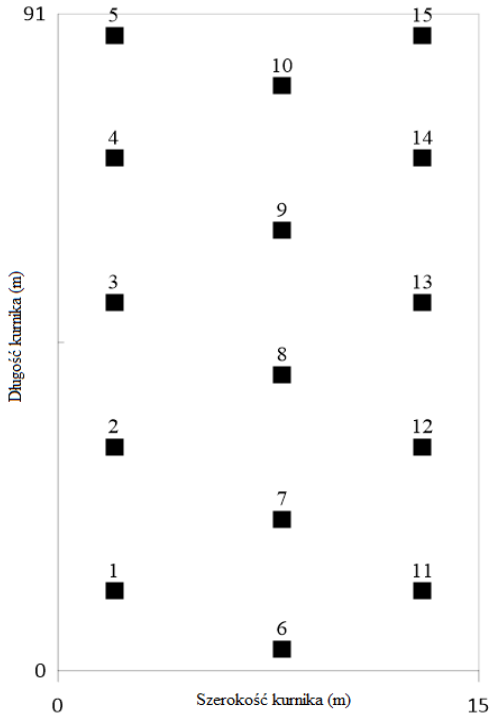
Budynki, w których odchowywano ptaki (każdy o powierzchni 1365 m^2 – 15 m ^{x} 91 m) wyposażone były w wentylację mechaniczną z możliwością regulacji wydajności pracy wentylatorów oraz oświetlenie sztuczne z regulacją natężenia światła. Ptaki w obu grupach miały stały dostęp do wody pitnej i żywione były standardowymi paszami przemysłowymi wg zaleceń producenta: starter 1-10 dni; grower I 11-20 dni; grower II 21-31 dni; finiszer 32-40 dni (Schaap-Pol Sp. z o.o., Połczyno, Polska). Nie dokonywano podziału ptaków ze względu na płeć. W czasie trwania doświadczenia na fermie nie odnotowano przypadków chorób zakaźnych.

3.3. Zadania badawcze

Dla osiągnięcia postawionego celu rozprawy doktorskiej podjęto następujące zadania badawcze:

1. Monitoring obecności *A. diaperinus* – śmiertelność owada (larw i imago) (**artykuł 2**) i jego rozmieszczenie w kurniku (**artykuł 3**). W kurnikach rozstawiono 15 specjalistycznych pułapek na owady (Salin i in., 2003) „Tenedrop" (Biomucha, Bonin, Polska). Pułapki rozmieszczono w budynkach – wzdłuż ścian podłużnych kurnika oraz w środku kurnika (pomiędzy linią karmnika i poidła) – każdorazowo w pierwszym dniu chowu kurcząt, przed przybyciem ptaków. Kurniki podzielono na trzy sekcje: lewą (pułapki 1-5), środkową (pułapki 6-10) i prawą (pułapki 11-15) (Rys. 1). *A. diaperinus*

z pułapek pobierano po każdej zmianie paszy dla kurcząt (10, 20, 31 dzień odchowu ptaków) oraz na koniec odchowu (40 dzień). Pobrane owady umieszczono w szczelnie zamkniętych plastikowych workach strunowych i mrożono przez 48 h w temperaturze -24°C (Salin i in., 2003; Chernaki-Leffer i in., 2007). Następnie chrząszcze umieszczano na szalce Petriego i liczono (Salin i in., 2003; Wolf i in., 2015).

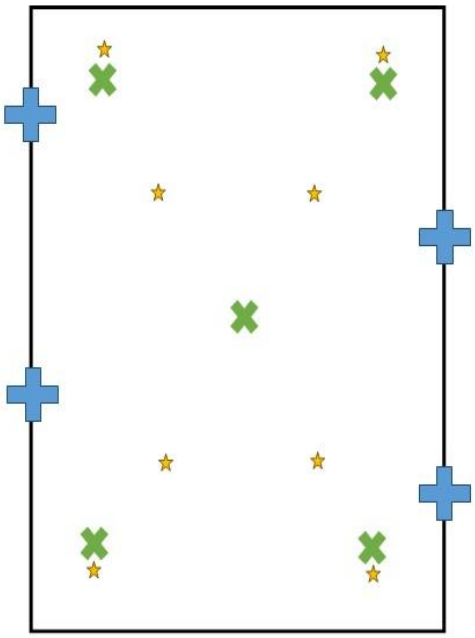


Rysunek 1. Rozmieszczenie pułapek „Tenedrop" w kurnikach

2. Analizy mikrobiologiczne (**artykuł 3**):
   a. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza – próbki powietrza do analiz mikrobiologicznych pobierano w 1, 21 i 40 dniu odchowu, metodą sedymentacji powietrza z użyciem płytek Petriego (w pięciu miejscach pomiarowych, w dwóch powtórzeniach). Następnie w warunkach laboratoryjnych oznaczono całkowitą liczbę bakterii tlenowych mezofilnych (EN-ISO 18593:2005) i grzybów (EN-ISO 21528-2:2005). Bakterie obecne na szalkach Petriego identyfikowano metodami makro- i mikroskopowymi przy użyciu testów biochemicznych API z oprogramowaniem APIWEB (BioMèrieux Polska Sp. z o.o.).
   b. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne ścian – oceniano przy użyciu techniki wymazów (metoda szablonowo-wymazowa). Do pobierania próbek z płaskich powierzchni ścian używano sterylnych szablonów oraz sterylnych tamponów zwilżonych

roztworem soli peptonowej. Próbki pobierano w 1, 21 i 40 dniu odchowu (w czterech miejscach pomiarowych, w dwóch powtórzeniach). *Salmonella* spp. (EN-ISO 6579-1:2017) i inne mikroorganizmy identyfikowano w warunkach laboratoryjnych w dwóch etapach: (1) izolowano pojedyncze kolonie z hodowli płytkowych, (2) przeprowadzano identyfikację gatunkową drobnoustrojów przy użyciu testów biochemicznych API i oprogramowania APIWEB.

c. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne ściółki – próbki ściółki pobierano do analiz w 1, 21 i 40 dniu odchowu (w ośmiu miejscach pomiarowych, w dwóch powtórzeniach). Zanieczyszczenie mikrobiologiczne określano zarówno ilościowo (całkowita liczba bakterii tlenowych mezofilnych: EN-ISO 18593:2005 oraz całkowita liczba grzybów: EN-ISO 21528-2:2005), jak i jakościowo (identyfikacja grzybów: na podstawie cech morfologicznych z zastosowaniem kluczy identyfikacyjnych wg Litvinov, 1967 i Piontek, 1999), stosując mikroskop laboratoryjny MN-800 (OPTA-TECH, Warszawa). Schemat pobierania próbek do analiz przedstawiono na Rys. 2.





Punkt poboru próbek do badań mikrobiologicznych – wymaz ze ścian



Punkt poboru próbek do badań mikrobiologicznych – powietrze



Punkt poboru próbek do badań mikrobiologicznych – ściółka (próba zbiorcza)

Rysunek 2. Schemat pobierania próbek z kurników do analiz mikrobiologicznych

3. Ocena warunków mikroklimatycznych oraz podstawowych parametrów fizykochemicznych ściółki (**artykuł 3**) – w kurnikach monitorowano temperaturę i wilgotność względną powietrza poprzez ciągłą rejestrację (co 15 min) za pomocą termohigrometrów LB-520 z interfejsem LB-521USB (LAB-EL, Reguly, Polska). Stężenie NH_3 w powietrzu mierzono za pomocą detektora wielogazowego DP-24 VET (NANOSENS sp. z o.o., Tarnowo Podgórne, Polska) na wysokości głów ptaków, trzy razy dziennie (w 15 miejscach w pobliżu pułapek na owady). Dokonano również oceny podstawowych parametrów fizykochemicznych ściółki. Temperaturę i wilgotność warstwy wierzchniej ściółki (do głębokości 5 cm) zmierzono termohigrometrem HAYMETER HMM 1625/02 (Dramiński S.A., Olsztyn, Polska), poziom NH_3 oznaczono metodą fotometryczną przy użyciu Ammonia PC Checkit (Lov-ibond, Dortmund, Niemcy), a pH ściółki zmierzono pH-metrem cyfrowym (CP-502, Elmetron Sp.j., Zabrze, Polska). Wyniki przedstawiono dla 1, 10, 20, 31 i 40 dnia odchowu (Mituniewicz i in., 2008; Witkowska i in., 2010).
4. Ocena wyników produkcyjnych (**artykuł 4**) – w każdym doświadczeniu 250 kurcząt z każdej grupy losowo ważono 1, 7, 14, 21, 28, 35 i 40 dnia odchowu w celu oceny masy ciała i przyrostów masy ciała. Natomiast, śmiertelność oceniano codziennie. Współczynnik wykorzystania paszy (FCR) obliczono dla całego okresu doświadczalnego (1-40 dni) oraz dla każdego tygodnia odchowu (Colombino i in., 2020). Dodatkowo na koniec odchowu obliczono Europejski Wskaźnik Wydajności (EBI) według wzoru (Hajati i in., 2015; Zaboli i in., 2016):

$$EBI = \frac{masa\ ciała\ (g)\ \times \%\ przeżytych\ ptaków\ \times 100}{PP\ \times FCR}$$

Oznaczenia: EBI – Europejski Wskaźnik Wydajności; % przeżytych ptaków = 100% - śmiertelność w stadzie (%); PP – długość cyklu produkcyjnego (dni); FCR – współczynnik wykorzystania paszy (g paszy/g przyrostów masy ciała)

5. Ocena wybranych wskaźników biochemicznych krwi (**artykuł 4**) – krew od 250 ptaków pobierano poubojowo z żyły szyjnej. Krew pełną pobrano do plastikowych fiolek zawierających antykoagulant – heparynę. Krew odwirowywano (3000×g) przez 10 min w temperaturze pokojowej (20,5-21,0°C) (Ognik i in., 2017), a następnie pobrano osocze do dalszych analiz. Wybrane wskaźniki biochemiczne oznaczano z użyciem analizatora

serii cobas 6000 (F. Hoffmann-La Roche Sp. z o.o., Basel, Szwajcaria): aminotransferazę asparaginianową (AST), aminotransferazę alaninową (ALT), gamma-glutamylotranspeptydazę (GGT), mocznik, cholesterol, triacyloglicerole.

3.4. Analiza statystyczna

Analizy statystycznej dokonano za pomocą Statistica v. 13.3.0 (TIBCO, 2017). Normalność rozkładów danych oceniano testem Shapiro-Wilka. Wykonano następujące analizy:

- śmiertelność larw i imago *A. diaperinus* – rozkład nie był normalny, toteż zastosowano test nieparametryczny U Mann-Whitney oraz analizę wariancji powtarzanych pomiarów dla rang Friedmana (ANOVA Friedmana) z użyciem testu Dunn'a;
- rozmieszczenie *A. diaperinus* w kurnikach – przed przystąpieniem do analiz statystycznych dane surowe poddano log-transformacji. Dzięki temu rozkład danych przybliżono do normalnego. W celu oceny wpływu farby biobójczej na rozmieszczenie *A. diaperinus* w pułapkach, zastosowano analizę wariancji z powtarzanymi miarami (ANOVA), w której zastosowana metoda dezynfekcji (wapnowanie lub farba biobójcza) oraz sekcje w kurniku (lewa, środkowa, prawa) były efektami stałymi, a kolejne doświadczenia (I, II, III) oraz dni pobierania owadów z pułapek (10, 20, 31 i 40) były czynnikami powtarzanymi. Test Tukey'a zastosowano do oceny wielokrotnych porównań i istotności różnic między średnimi. W dalszej części analiz, osobno dla każdego kurnika, za pomocą analizy kontrastów ortogonalnych na poziomie istotności $\alpha = 0{,}05$ oceniono istotność różnic w liczbie *A. diaperinus* złapanego w pułapkach w różnych sekcjach. Zastosowano tu dwa kontrasty ortogonalne (C#1 i C#2), które oceniły różnicę między pułapkami umieszczonymi w sekcji środkowej a sekcji prawej i lewej, a także między sekcją lewą i prawą. Kolejno, wybrano pułapki o najwyższej i powtarzającej się liczbie osobników *A. diaperinus* we wszystkich doświadczeniach i określono je jako „punkty krytyczne". Do oceny różnic średnich wartości liczby osobników *A. diaperinus* złapanych w wytypowanych pułapkach tzw. „punktach krytycznych" między badanymi kurnikami w danym dniu pomiarów wykorzystano test *t*-Studenta;
- średnią liczbę bakterii tlenowych mezofilnych i grzybów w powietrzu i ściółce w kurnikach oraz istotność różnic między grupą L i Bp oceniano za pomocą

jednoczynnikowej analizy wariancji z powtarzanymi pomiarami (ANOVA), a następnie testem *t*-Studenta;

- warunki mikroklimatyczne i parametry fizykochemiczne ściółki porównano między grupami (L i Bp) za pomocą testu *t*-Studenta, a wielokrotne porównania ocenianych parametrów w obrębie grup poddano jednoczynnikowej analizie wariancji z powtarzanymi pomiarami (ANOVA), z użyciem testu Tukey'a;
- średnie parametrów odchowu oraz wybranych wskaźników krwi porównano pomiędzy grupami L i Bp przy użyciu testu *t*-Studenta;
- w celu oceny, czy długookresowa farba biobójcza istotnie wpłynęła na analizowane w badaniach parametry w kolejnych powtórzeniach doświadczenia zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji z powtarzanymi pomiarami (ANOVA), a istotność różnic sprawdzano testem Tukey'a.

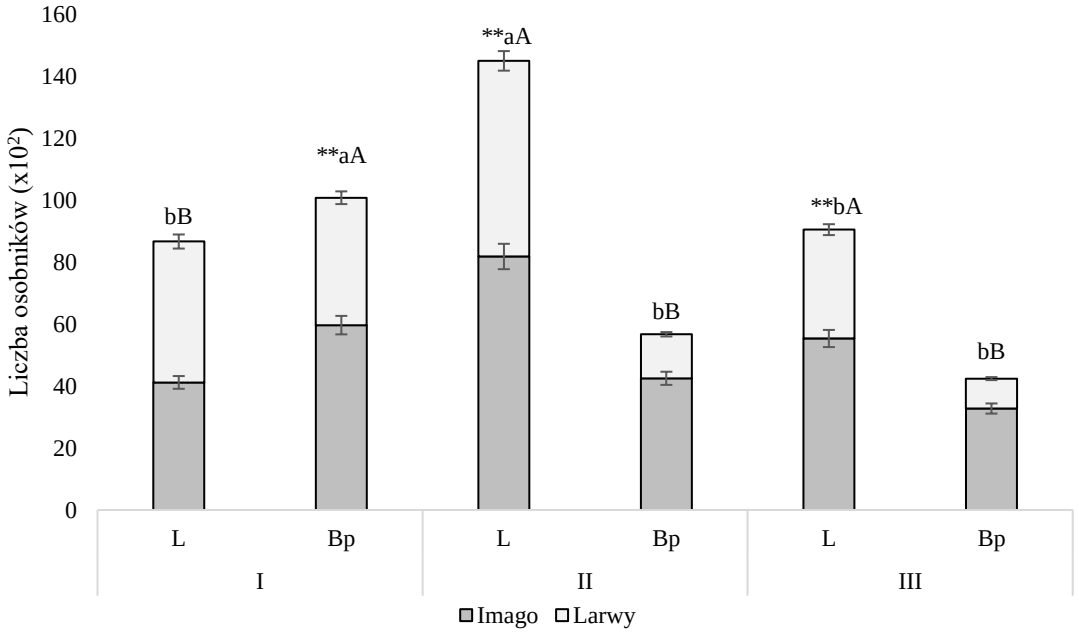
Dla wszystkich testów zastosowano istotność na poziomie $p < 0,05$.

4. OMÓWIENIE NAJWAŻNIEJSZYCH WYNIKÓW BADAŃ

4.1. Monitoring obecności *A. diaperinus*

4.1.1. Śmiertelność *A. diaperinus* **(artykuł 2)**

W grupie Bp ogólna liczba owadów zmniejszała się wraz z kolejnym doświadczeniem. Zaobserwowano, że początkowo liczba owadów uległa istotnemu zmniejszeniu (w doświadczeniu II o ponad 40% w porównaniu do doświadczenia I). Ogólna liczba owadów w doświadczeniu III zmniejszyła się o 25% w porównaniu do doświadczenia II, ale różnica ta nie była istotna. Liczba larw w pułapkach została zredukowana w stosunku do populacji wyjściowej (doświadczenie I): w doświadczeniu II o 66%; w doświadczeniu III o 77%. W przypadku imago populacja zmniejszyła się o odpowiednio 29% i 45% (Rys. 3). Podobnych zależności nie potwierdzono w przypadku grupy L.



Rysunek 3. Liczba larw i imago we wszystkich doświadczeniach

Oznaczenia: L – grupa L; Bp – grupa Bp; I,II,III – nr doświadczenia; ** – różnice istotne w ogólnej liczbie owadów między grupą L i Bp w poszczególnym doświadczeniu; a,b – różnice istotne w liczbie larw między grupą L i Bp w poszczególnym doświadczeniu; A,B – różnice istotne w liczbie imago między grupą L i Bp w poszczególnym doświadczeniu; na słupkach (wąsy) oznaczono standardowy błąd pomiaru (SEM)

W doświadczeniu I istotnie więcej owadów złapano w pułapki w grupie Bp, czego nie potwierdzono w kolejnych doświadczeniach, gdyż zaobserwowano tendencję malejącą. Może to wskazywać na to, iż właściwości odstraszające i owadobójcze farby biobójczej, wraz z upływającym czasem, nadal wykazywały aktywność. Dlatego też, liczba owadów w kurniku była niższa z każdym kolejnym doświadczeniem. W doświadczeniu II, czyli 5

miesięcy od zastosowania farby biobójczej, liczba owadów w przeliczeniu na jedną pułapkę zmniejszyła się o około 22,86%, a ponad rok od zastosowania farby – o około 45,91% (w stosunku do wartości początkowej, za którą przyjęto średnią z doświadczenia I). Potwierdza to istotną skuteczność działania farby biobójczej w czasie. W przypadku grupy L, średnia liczba owadów w pułapce wzrosła o 98,40% w doświadczeniu II oraz o 53,97% w doświadczeniu III (w stosunku do wartości początkowej za którą przyjęto średnie z doświadczenia I) (Tab. 2).

Tabela 2. Liczba osobników *A. diaperinus* w przeliczeniu na jedną pułapkę

Doświadczenie	Grupa	Mediana	Min.	Max.	r/w
I	L	585 ±35,22	0,00	1940	-
	Bp	670[a] ±35,07	0,00	1028	-
II	L	725 ±71,62	0,00	3849	98,40 w
	Bp	350[b] ±22,52	0,00	793	22,86 r
III	L	590 ±31,46	0,00	2987	53,97 w
	Bp	160[c] ±12,48	0,00	556	45,91 r

Oznaczenia: ± standardowy błąd pomiaru (SEM); a,b – istotność różnic między doświadczeniami w liczbie osobników w przeliczeniu na jedną pułapkę w grupie L oraz w grupie Bp; min. – minimalna liczba owadów w jednej pułapce; max. – maksymalna liczba owadów w jednej pułapce; r – redukcja, w – wzrost, r/w – stosunek procentowy r:w

Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że farba biobójcza ma istotny wpływ na śmiertelność *A. diaperinus* oraz że jest skuteczniejsza w zmniejszeniu populacji owada niż wapnowanie. Wybór odpowiedniego produktu do zwalczania *A. diaperinus* w produkcji drobiarskiej może być problematyczny (Salin i in., 2003; Lyons i in., 2017), głównie ze względu na fakt, że insektycydy mogą być stosowane tylko w okresie odpoczynku budynku, kiedy w kurniku nie ma ptaków (Lambkin i in., 2006; Tomberlin i in., 2008). Ponadto, niektóre środki owadobójcze nie zawsze są skuteczne, ponieważ mogą nie docierać do kryjówek owadów (na przykład do szczelin ścian i podłogi) (Lonc i in., 2001). Według Hickmanna i in. (2018), obecnie najczęściej stosowanymi chemicznymi środkami owadobójczymi są pyretroidy i związki fosforoorganiczne, które mogą prowadzić do narastającej oporności *A. diaperinus* na te związki. Badacze podają, że w Wielkiej Brytanii oporność owada na fenitrotion i permetrynę zaobserwowano już w 1996 roku. Z kolei, w Australii potwierdzono oporność *A. diaperinus* na fenitrotion, deltametrynę i cyflutrynę. Natomiast w Ameryce Północnej i Południowej odnotowano oporność na karbaryl, metoksychlor, dichlorodifenylotrichloroetan, cyflutrynę, permetrynę, cypermetrynę i chloropiryfos. W Brazylii zaobserwowano bardzo niską skuteczność produktów zawierających cypermetrynę. Regularne oznaczanie wrażliwości owadów na insektycydy

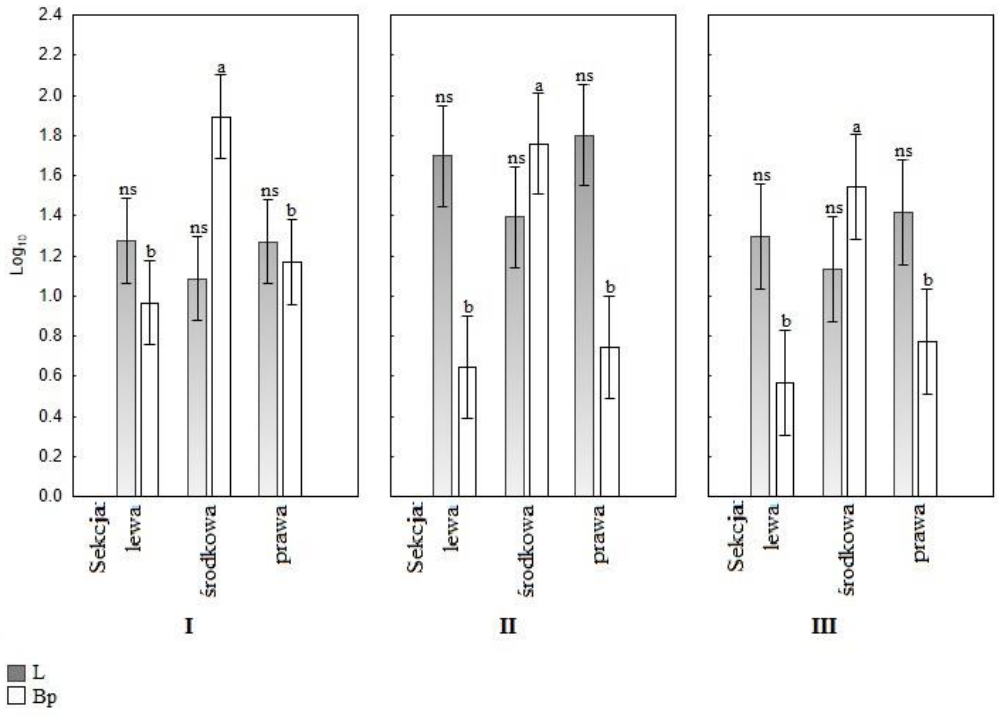
pozwoliłoby producentom na rotację środków chemicznych w celu zmniejszenia oporności owadów na insektycydy w danej populacji (Prabhaker i in., 1998; He i in., 2012; Lyons i in., 2017). Umożliwiłoby to także ograniczenie stosowanych związków chemicznych w produkcji zwierzęcej.

4.1.2. Rozmieszczenie *A. diaperinus* w kurnikach **(artykuł 3)**

Analiza kontrastu ortogonalnego nie wykazała istotnych różnic w liczbie owadów w pułapkach umieszczonych w różnych sekcjach w grupie L (C#1 p = 0,3718; C#2 p = 0,8237). W grupie Bp stwierdzono istotną różnicę między średnią liczbą *A. diaperinus* w pułapkach umieszczonych w sekcji środkowej oraz w sekcji lewej i prawej (C#1 p = 0,0030) we wszystkich doświadczeniach (Tab. 3, Rys. 4).

Tabela 3. Analiza kontrastów ortogonalnych między sekcjami

Kontrast	**Sekcja**			***p***
	Lewa	**Środkowa**	**Prawa**	
C#1 sekcja środkowa vs. lewa i prawa	-1	2	-1	
L				0,3718
Bp				0,0030
C#2 sekcja lewa vs. prawa	1	0	-1	
L				0,8237
Bp				0,6033



Rysunek 4. Rozmieszczenie *A. diaperinus* w sekcjach w kurniku

Oznaczenia: L – grupa L; Bp – grupa Bp; I,II, III – nr doświadczenia a,b – istotne różnice między sekcjami w grupie; ns – brak istotnych różnic między sekcjami w grupie; na słupkach (wąsy) oznaczono standardowy błąd pomiaru (SEM)

W grupie L średnia liczba *A. diaperinus* była najwyższa w pułapkach nr: 13, 4, 3, 14 i 12, natomiast najniższa w pułapkach nr 6 i 1. Pułapki te były zlokalizowane w różnych sekcjach, a powtarzalność pomiarów nie została potwierdzona. W grupie L nie wskazano także „punktów krytycznych". W grupie Bp średnia liczba owadów była najwyższa w pułapkach nr: 8, 9 i 7 zlokalizowanych w środkowej sekcji. Liczba *A. diaperinus* gromadzonych w ww. pułapkach była powtarzalna w każdym doświadczeniu, dlatego ustalono, iż są to „punkty krytyczne". Z kolei, najmniej owadów notowano w pułapkach odpowiednio o nr: 15, 2, 6, 1, 5 i 11. Test *t*-Studenta wykazał, że w 10 dniu odchowu nie było istotnej różnicy w liczbie szkodników znajdujących się w „punktach krytycznych" między grupami ($p = 0{,}1562$). W pozostałych dniach pomiarów średnia liczba szkodników była istotnie wyższa w pułapkach nr: 7, 8 i 9 w grupie Bp niż w grupie L ($p < 0{,}001$) (Tab. 4). Wyniki wskazują, że w grupie Bp najwięcej owadów gromadziło się w „punktach krytycznych" zlokalizowanych w środkowej sekcji kurnika, co nie miało miejsca w grupie L. Może to wskazywać na możliwość kontroli rozmieszczenia *A. diaperinus* w kurnikach po zastosowaniu farby biobójczej.

Tabela 4. Średnia logarytmiczna liczby szkodników w „punktach krytycznych"

Dzień odchowu	Średnia Log L	Średnia Log Bp	*p*
10	0,58	0,88	0,1562
20	1,48	2,40	0,0008
31	1,62	2,73	0,0001
40	2,33	2,87	0,0004

Oznaczenia: L – grupa L; Bp – grupa Bp

Stosowanie farb biobójczych może być skutecznym sposobem ograniczania populacji owadów poprzez odstraszanie, bezpośrednie zwalczanie lub kontrolowanie rozmieszczenia się szkodników w kurnikach (Maloney i in., 2013; Feat i in., 2019). W wielu pracach badano wpływ farb owadobójczych na owady. Amelotti i in. (2009) oceniali skuteczność farby owadobójczej opartej na formułach fosforoorganicznych i pyretroidowych w zwalczaniu *Triatoma infestans*. Badacze stwierdzili, że preparaty pyretroidowe i fosforoorganiczne spowodowały śmiertelność owada na poziomie 84%-98% po 12 miesiącach stosowania. W innym badaniu wykazano, że farba owadobójcza na bazie związków fosforoorganicznych była skuteczna w zwalczaniu komarów pospolitych (*Culex*

pipiens) zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i produkcyjnych. Wskaźnik śmiertelności wynosił 93-100% po 12 miesiącach stosowania w laboratorium (Mosqueira i in., 2010a). Z kolei w warunkach produkcyjnych śmiertelność po 12 miesiącach oscylowała w zakresie 60-80% (Mosqueira i in., 2010b).

4.2. Analizy mikrobiologiczne

W przypadku średniej ilości bakterii tlenowych mezofilnych w powietrzu, test *t*-Studenta nie wykazał istotnych różnic między grupami L i Bp w I i II doświadczeniu, natomiast istotną różnicę stwierdzono w doświadczeniu III. Liczebność bakterii tlenowych mezofilnych była istotnie niższa w grupie Bp. Podobne wyniki uzyskano w przypadku liczebności grzybów w powietrzu. W grupie L ogólna liczba bakterii tlenowych mezofilnych i grzybów w powietrzu wzrastała w okresie odchowu. Odmienną tendencję zaobserwowano w grupie Bp – w większości prób liczebność bakterii tlenowych mezofilnych i grzybów ulegała zmniejszeniu (Tab. 5). Może to również wskazywać na powolne uwalnianie substancji aktywnych z farby biobójczej, zastosowanej jako długookresowy środek dezynfekcyjny.

Tabela 5. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne w powietrzu ($log_{10}CFU/m^3$)

		L				**Bp**				**[2] *p*-Value L vs. Bp**
		1	**21**	**40**	**[1] $\bar{x} \pm$ SEM**	**1**	**21**	**40**	**[1] $\bar{x} \pm$ SEM**	
Bakterie tlenowe Mezofilne	I	1,14	2,64	2,40	2,06±0,11	2,69	2,50	1,12	2,11±0,11	0,7058
	II	2,85	2,21	3,17	2,74±0,06	2,49	2,37	2,92	2,59±0,06	0,2494
	III	2,54	2,91	3,09	2,85±0,08	2,34	2,61	2,80	2,58±0,08	0,0462
Grzyby	I	0,38	1,70	1,99	1,36±0,09	2,03	1,46	0,18	1,22±0,09	0,3355
	II	2,59	1,41	2,02	2,01±0,07	2,12	1,53	1,57	1,74±0,07	0,0660
	III	1,40	1,94	2,20	1,85±0,12	1,30	1,32	1,61	1,41±0,12	0,0044

Oznaczenia: L – grupa L; Bp – grupa Bp; I,II,III – nr doświadczenia; 1,2,40 – dni odchowu, SEM – standardowy błąd pomiaru;

Zanieczyszczenie ściółki bakteriami tlenowymi mezofilnymi było istotnie niższe w grupie Bp w każdym doświadczeniu w porównaniu z grupą L. W przypadku grzybów, w doświadczeniu I nie stwierdzono istotnych różnic w zanieczyszczeniu ściółki między grupami L i Bp ($p = 0,2835$). Jednak w pozostałych doświadczeniach potwierdzono istotne różnice. Liczebność grzybów w ściółce była istotnie niższa w grupie Bp. Ponadto w prawie wszystkich pomiarach, farba biobójcza była istotnie skuteczniejsza niż wapnowanie (Tab. 6).

Tabela 6. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne w ściółce (log_{10}CFU/g)

		L				Bp				[2] *p*-Value L vs. Bp
		1	**21**	**40**	**[1] $\bar{x} \pm$ SEM**	**1**	**21**	**40**	**[1] $\bar{x} \pm$ SEM**	
Bakterie tlenowe mezofilne	I	7,98	10,12	10,64	9,58±0,18	7,84	9,17	9,96	8,99±0,18	0,0121
	II	7,47	9,24	10,22	8,98±0,13	6,87	7,45	9,90	8,07±0,13	0,0002
	III	7,92	9,09	10,26	9,09±0,16	7,06	7,96	9,77	8,26±0,16	0,0006
Grzyby	I	6,21	7,91	9,56	7,89±0,17	6,08	7,92	8,94	7,65±0,17	0,2835
	II	6,32	8,32	9,40	8,01±0,18	5,19	6,77	8,19	6,72±0,18	<0,0001
	III	6,44	7,57	8,94	7,65±0,13	5,49	6,86	8,35	6,90±0,13	0,0019

Oznaczenia: L – grupa L; Bp – grupa Bp; I,II,III – nr doświadczenia; 1,2,40 – dni odchowu, SEM – standardowy błąd pomiaru;

Zanieczyszczenie mikrobiologiczne w kurnikach jest wyższe niż w innych budynkach inwentarskich (Yang i in., 2018). W celu oceny poziomu zanieczyszczenia mikrobiologicznego, wyniki niniejszego badania porównano z wynikami innych autorów. Stwierdzono, że średnie stężenie zanieczyszczeń mikrobiologicznych w powietrzu było niższe niż podawane przez innych badaczy zarówno w sezonie letnim, jak i zimowym. W niniejszych badaniach średnia liczba bakterii tlenowych mezofilnych nie przekraczała 3,17 i 2,92 log_{10}CFU/m^3, a grzybów: 2,59 i 2,12 log_{10}CFU/m^3, odpowiednio w grupach L i Bp. W doświadczeniu przeprowadzonym przez Mituniewicza i in. (2008) zastosowano różne dodatki do ściółki. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza w tych kurnikach wynosiło od 5,00 do 6,75 log_{10}CFU/m^3 (bakterie) i od 5,01 do 6,50 log_{10}CFU/m^3 (grzyby), co wskazuje na to, że wartości potwierdzone w niniejszej pracy były niższe od uzyskanych przez Mituniewicz i in. (2008). W pracy Wójcik i in. (2010) w okresie letnim najniższy poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza wynosił odpowiednio 5,00 log_{10}CFU/m^3 (bakterie) i 4,55 log_{10}CFU/m^3 (grzyby). Natomiast w sezonie zimowym wartości te były jeszcze wyższe. Z kolei w badaniach Lawniczek-Walczyk i in. (2013) zanieczyszczenia mikrobiologiczne powietrza już na początku doświadczenia kształtowały się na poziomie, jaki odnotowano w badaniach własnych, ale w ostatnim dniu odchowu ptaków. W badaniach własnych odnotowano niższe stężenie bakterii w powietrzu w kurnikach niż uzyskane przez: Witkowska i Sowińska (2013) oraz Kostadinova i in. (2014). Yang i in. (2018) odnotowali nieco niższe stężenia bakterii i grzybów w powietrzu niż te potwierdzone przez ww. badaczy, ale nadal były one wyższe niż w badaniach własnych (bakterie: 3,59-4,65 log_{10}CFU/m^3, grzyby: 2,37-3,68 log_{10}CFU/m^3). W porównaniu z wynikami innych autorów, wartości odnotowane w badaniach własnych

były znacznie niższe. Wyniki te mogą sugerować, że zarówno wapnowanie jak i analizowana farba biobójcza były skutecznymi metodami dezynfekcji, które poprawiły jakość mikrobiologiczną powietrza w kurnikach, ale przy istotnie lepszych wynikach w grupie, gdzie zastosowano farbę biobójczą.

Porównano również poziom zanieczyszczenia ściółki w badaniach własnych z wynikami innych autorów. Średnia ogólna liczba bakterii tlenowych mezofilnych w ściółce uzyskana w badaniach własnych w grupie Bp była zbliżona do odnotowanych wyników przez Witkowską i Sowińską (2013) po zamgławianiu kurników wodnymi roztworami olejku mięty pieprzowej i olejku tymiankowego. Wartości uzyskane w niniejszych badaniach były wyższe od najwyższej ilości bakterii w ściółce podanych przez Kostadinova i in. (2014). Milanov i in. (2019) oceniali całkowitą liczebność mikroorganizmów (w tym tlenowych bakterii mezofilnych, drożdży i pleśni) w dwóch kurnikach. Uzyskane przez nich wyniki były niższe niż w badaniach własnych. W badaniach własnych uzyskano wyższy poziom zanieczyszczenia grzybami w ściółce w porównaniu z wynikami badań Viegas i in. (2012), Witkowska i in. (2016) oraz Ostović i in. (2021). Wydaje się zatem, że ani wapnowanie, ani farba biobójcza nie są tak skuteczne w ograniczaniu zanieczyszczenia mikrobiologicznego w ściółce, jak środki dezynfekcyjne w postaci przede wszystkim dodatków do ściółki. Badana farba biobójcza jest jednak bardziej skuteczna niż wapnowanie. Wobec tego warto rozważyć zastosowanie metody łączonej, polegającej na aplikacji farby biobójczej, a następnie dodaniu środka dezynfekującego (np. naturalnych olejków eterycznych) do ściółki.

Zidentyfikowana w badaniach mikroflora charakteryzowała się obecnością 15 rodzajów/gatunków w grupie L i 13 w grupie Bp. W trakcie trwania doświadczenia w obu grupach zidentyfikowano podobne rodzaje i gatunki drobnoustrojów, z przewagą *Proteus* spp., niehemolitycznych *E. coli* i *Enterobacter cloacae*. Analiza jakościowa ściółki wykazała, że w obu grupach przeważały grzyby: *Cladosporium* spp. i *Candida krusei*. Ponadto w grupie L zidentyfikowano *Aspergillus fumigatus* i *Penicillium* spp., natomiast w grupie Bp występowały *Rhodotorula* i *Trichosporon*. W żadnej z pobranych próbek nie wykryto obecności *Salmonella* spp.

Pałeczki *Salmonella* uznawane są za jeden z głównych patogenów w przemyśle drobiarskim. Odpowiedzialne są za przenoszenie chorób drogą pokarmową (za pośrednictwem produktów drobiowych), a także za straty ekonomiczne producentów drobiu (Namata i in., 2009; Firouzabadi i in., 2020). Polska, jako państwo członkowskie UE, musi corocznie przedstawiać wyniki Narodowego Programu Zwalczania *Salmonella* spp.

w stadach brojlerów (EFSA, 2021) w celu ograniczenia występowania odzwierzęcych czynników chorobotwórczych przenoszonych drogą pokarmową oraz ryzyka, jakie stanowią one dla zdrowia publicznego. Zalecane środki obejmują zapobieganie wprowadzaniu *Salmonella* spp. na fermy kurcząt i jej przenoszeniu w obrębie fermy (Firouzabadi i in., 2020). Dlatego tak ważne jest utrzymanie najwyższych standardów higieny w gospodarstwie. W związku z tym, konieczne są dobór i stosowanie skutecznych środków dezynfekcyjnych ze względu na rosnącą oporność *Salmonella* spp. Poziom oporności patogenu jest różny w poszczególnych krajach i zależy od wielu czynników (McDermott i in., 2018). Pojawienie się oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe w produkcji drobiarskiej stanowi poważny problem dla zdrowia publicznego (Nhung i in., 2017). W niniejszym badaniu patogen ten nie został wykryty w żadnym z kurników we wszystkich próbach, co jest pożądane ze względu na bezpieczeństwo publiczne, dobrostan ptaków oraz opłacalność produkcji.

Mikroorganizmy zidentyfikowane w badaniach własnych (w powietrzu i w ściółce) są najczęściej spotykanymi w obiektach drobiarskich i były również opisywane przez innych badaczy (Mituniewicz i in., 2008; Wójcik i in., 2010; Witkowska i Sowińska, 2013; Skóra i in., 2016; Jiang i in., 2018; Yang i in., 2018; Chen i in., 2021; Ostović i in., 2021). Co ważne, patogeny takie jak *Klebsiella pneumoniae* i *Enterococcus faecalis* nie zostały zidentyfikowane w grupie Bp. Jest to korzystny wynik, gdyż *K. pneumoniae* jest najważniejszym medycznie gatunkiem *Klebsiella* spp. U ludzi może powodować zakażenia dróg oddechowych i moczowych. U drobiu *K. pneumoniae* jest jednym z patogenów układu oddechowego odpowiedzialnych za wysoką śmiertelność u piskląt i ptaków dorosłych (Hamza i in., 2016). Ponadto stwierdzono, że *K. pneumoniae* izolowana z ferm drobiarskich nabywa coraz większą oporność na stosowane środki przeciwdrobnoustrojowe (Permatasari i in., 2020). Z kolei *E. faecalis* jest jednym z sześciu gatunków z rodzaju *Enterococcus* związanych z chorobami drobiu (Jørgensen i in., 2017). Są szczególnie niebezpieczne, gdyż podobnie, jak *K. pneumoniae* są bakteriami, które szybko nabywają oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe. W przeciwieństwie do grupy L, w ściółce w grupie Bp nie wykryto wytwarzających mikotoksyny: *Penicillium* spp. i *Aspergillus fumigatus*, które powodują odpowiednio penicyliozę i aspergilozę. Jest to również korzystny wynik ze względu na patogenność ww. grzybów pleśniowych. Niestety, grzyby te są często notowane w ściółce w brojlerniach, co potwierdzają liczne wyniki badań prowadzone na całym świecie (Arné i in., 2011; Witkowska i in., 2016; Gerber i in., 2020; Tomić i in., 2021).

Liczebność mikroorganizmów w powietrzu oraz w ściółce w budynkach inwentarskich zależy od wielu czynników, takich jak temperatura i wilgotność powietrza, ruchu powietrza wewnątrz budynku, skuteczności i rodzaju wentylacji, stężenia NH_3 oraz jakości ściółki. Parametry te wpływają na poziom higieny w kurnikach. Uzyskane wyniki mogą sugerować, że analizowana farba biobójcza może poprawić jakość mikrobiologiczną powietrza i ściółki oraz może być uznana za efektywniejszą metodę dezynfekcji niż wapnowanie.

4.3. Warunki mikroklimatyczne oraz podstawowe parametry fizykochemiczne ściółki

Podczas analiz nie stwierdzono istotnych różnic w temperaturze i wilgotności względnej powietrza między grupami w poszczególnych doświadczeniach. W obu grupach początkowa średnia temperatura wynosiła 34°C±0,45°C, natomiast na koniec odchowu: 22°C±0,81°C. Zakres wilgotności względnej mieścił się między 57% a 70%. W pierwszym dniu odchowu stężenie NH_3 w powietrzu wynosiło 0 ppm w obu grupach w każdym doświadczeniu, a następnie systematycznie wzrastało. Z kolei, w ostatnim dniu odchowu stwierdzono istotne różnice w stężeniu NH_3 pomiędzy grupami w każdym doświadczeniu. Wartości były istotnie wyższe w grupie L. Średnie wartości parametrów mikroklimatu były zgodne z minimalnymi warunkami utrzymania dla drobiu (Dz. Urz. UE L 182 z 12.07.2007, str. 19; Dz. U. z 2010 r. Nr 56, poz. 344).

Stwierdzono istotne różnice w średniej temperaturze ściółki między grupami L i Bp w doświadczeniu I. Nie stwierdzono istotnych różnic w wilgotności ściółki między grupami w poszczególnych powtórzeniach. Wartości parametrów wzrastały podczas odchowu. Stwierdzono istotne różnice w stężeniu NH_3 w ściółce pomiędzy grupami. Istotnie wyższe wartości odnotowano w grupie L, w zakresie 0,27-32,60 ppm w doświadczeniu I, 0,07-30,87 ppm w doświadczeniu II oraz 1,15-28,80 ppm w doświadczeniu III. Z kolei w grupie Bp odnotowano następujące zakresy wartości: 0,07-23,47 ppm, 0,00-23,50 ppm i 0,00-23,20 ppm (odpowiednio w próbach I, II i III). Ponadto stężenie NH_3 w ściółce wzrastało przez cały okres odchowu w obu grupach, co odnotowano we wszystkich doświadczeniach. Nie stwierdzono istotnych różnic w pH ściółki pomiędzy grupami L i Bp. W obu grupach wartości pH mieściały się w zakresie 5,17-6,21 przez cały czas trwania doświadczenia.

Wartości parametrów mikroklimatu w analizowanych kurnikach były porównywalne z uzyskanymi przez innych badaczy (Iwańczuk-Czernik i in., 2007; Vučemilo i in. 2007; Mituniewicz i in., 2008; Vučemilo i in., 2008; Wójcik i in., 2010; Lawniczek-Walczyk i in., 2013; Kic, 2016; Witkowska i in., 2016; Tomić i in., 2021). Temperatura powietrza

wewnętrznego była najwyższa w pierwszym tygodniu odchowu, a następnie wyraźnie obniżała się; wilgotność względna utrzymywała się na podobnym poziomie w czasie odchowu w obu grupach we wszystkich doświadczeniach; stężenie NH_3 systematycznie wzrastało w czasie trwania doświadczenia. Badana farba biobójcza nie wpłynęła istotnie na parametry mikroklimatu. Jakkolwiek notowano, iż pod koniec każdego doświadczenia średnia koncentracja NH_3 w powietrzu była istotnie niższa w grupie Bp, co może mieć związek z istotnie niższym stężeniem NH_3 w ściółce w całym badaniu.

W systemach intensywnej produkcji brojlerów obsada zwierząt w kurnikach jest bardzo duża, co utrudnia utrzymanie optymalnych warunków mikroklimatycznych i higienicznych. Jedną z przyczyn tego stanu rzeczy jest fakt, że ściółka pozostaje wewnątrz kurników przez cały cykl produkcyjny. Pomiot kurzy jest mieszaniną materiału ściółkowego, paszy, kałomoczu, piór i innej materii organicznej, która może być źródłem skażenia środowiska, stanowiąc zagrożenie dla zdrowia brojlerów (Mituniewicz i in., 2008; Vučemilo i in., 2008; Bodi i in., 2013; Kostadinova i in., 2014; Gerber i in., 2020). Zła jakość ściółki sprzyja rozwojowi grzybów, dlatego też ściółka powinna być stale monitorowana, głównie poprzez ocenę jej temperatury i wilgotności (Arné i in., 2011; Ostović i in., 2021), stężenia NH_3 (Mituniewicz i in., 2008) i pH (Fries i in., 2005; Bodi i in., 2013). Według Arné i in. (2011) wpływ wilgotności i pH ściółki na zanieczyszczenia ściółki grzybami nie jest do końca wyjaśniony, to wilgotne i zanieczyszczone miejsca mogą sprzyjać rozwojowi grzybów. Odnotowane w niniejszej pracy parametry fizykochemiczne ściółki są podobne do podawanych przez Iwańczuk-Czernik i in. (2007), Mituniewicza i in. (2008) oraz Ostović i in. (2021). Wyniki te mogą wskazywać, że zarówno wapnowanie, jak i analizowana farba biobójcza zapewniają właściwą higienę ściółki.

W niniejszych badaniach warunki mikroklimatyczne w obu kurnikach oraz parametry fizykochemiczne ściółki były zgodne z obowiązującymi przepisami unijnymi (Dz. Urz. UE L 182 z 12.07.2007, str. 19) i polskimi (Dz. U. z 2010 r. Nr 56, poz. 344) oraz z odpowiednimi zaleceniami zoohigienicznymi (Abreu i in., 2011; Kołacz i Dobrzański, 2019; Ostović i in., 2021).

4.4. Wyniki produkcyjne

Odnotowano, iż podczas doświadczenia I u jednodniowych piskląt różnica w masie ciała była istotna, ale nie było istotnych różnic w końcowej masie ciała ptaków. Z kolei, w doświadczeniu II i III nie potwierdzono różnic w masie ciała na początku odchowu, ale odnotowano istotne różnice w obu przypadkach na koniec odchowu. Masa ciała kurcząt

w 40 dniu życia, niezależnie od zastosowanej metody dezynfekcji i dezynsekcji, mieściła się w granicach 2,631-2,896 kg. Statystycznie potwierdzono w doświadczeniu II i doświadczeniu III wyższą końcową masę ciała brojlerów w grupie Bp w porównaniu do masy ciała ptaków z grupy L. Natomiast, nie potwierdzono, że zastosowanie długotrwałej metody dezynfekcji i dezynsekcji skutkowało niższą masą ciała u ptaków podczas całego doświadczenia. Średnie wartości dobowych przyrostów masy ciała były zbliżone w obu grupach podczas całego doświadczenia, a odnotowane różnice były na granicy istotności. Jakkolwiek, częściej istotnie wyższe wartości notowano w grupie Bp.

Analizując literaturę badawczą zauważono, iż masa ciała ptaków rzeźnych uzyskana w badaniach własnych była zbliżona (Witkowska i in., 2007) bądź wyższa niż uzyskana przez innych naukowców utrzymujących ptaki w zbliżonych warunkach (de Castro Burbarelli i in., 2015; de Castro Burbarelli i in., 2017; Witkowska i in., 2019). Nie odnotowano wyraźnych różnic w średniej masie ciała oraz w przyrostach masy ciała w obu grupach w porównaniu ze standardową wydajnością wzrostu dla kurcząt Ross 308 (Aviagen, 2019).

Oceniano również czy zastosowanie w jednym kurniku wapnowania, a w drugim farby biobójczej wpłynie na śmiertelność i FCR. Istotne różnice w śmiertelności ptaków zostały potwierdzone pomiędzy grupami w każdym doświadczeniu. Nie potwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy średnimi wartościami FCR pomiędzy grupami.

W oparciu o literaturę naukową, zaobserwowano pewną tendencję w chowie ptaków rzeźnych – wraz z upływem czasu notowana jest niższa śmiertelność w stadzie brojlerów kurzych (Witkowska i in., 2007; van Limbergen i in., 2016; Utnik-Banaś, 2017; Witkowska i in., 2019), co może mieć związek z doskonaleniem praktyk dotyczących zarządzania stadem oraz praktyk higienicznych. Innymi czynnikami na to wpływającymi bez wątpienia są innowacyjne rozwiązania techniczne i technologiczne w produkcji. W badaniach własnych w doświadczeniu I śmiertelność ptaków w grupie Bp była niższa o 3,18% w porównaniu z grupą L. W doświadczeniu II i III różnica wynosiła odpowiednio: 3,73 i 4,07%. Szőllősi i Szűcs (2014) podają, że średnia śmiertelność w stadzie brojlerów w niektórych krajach UE oscyluje w graniach 3,70-4,50%. Średnia śmiertelność w grupie Bp nie przekraczała 2%. Tak niski wskaźnik śmiertelności jest pożądany – nie tylko dla producenta, ale również z punktu widzenia dobrostanu ptaków. Odpowiedni dobór metody dezynfekcji i dezynsekcji ma kluczowe znaczenie w odchowie ptaków. Ponadto, wyższa śmiertelność w stadzie generuje wyższe straty finansowe.

FCR w obu grupach było nieco wyższe niż w badaniach de Castro Burbarelli i in. (2015) oraz Witkowska i in. (2019), a także wg standardowej wydajności wzrostu dla kurcząt Ross 308 (Aviagen, 2019). Natomiast w badaniach, w których modyfikacjom poddano aspekt żywieniowy, notowano wyższe wartości tego parametru (Mohammed i Abbas, 2009). Szőllősi i Szűcs (2014) podają, że średnia wartość FCR w Polsce wynosi 1,76, co jest zbliżoną wartością do uzyskanych w badaniach własnych w obu grupach. Ponadto, można stwierdzić, że w badaniach własnych ptaki utrzymywane w budynku z zastosowaną farbą biobójczą, lepiej wykorzystywały paszę. Świadczy o tym wyższa końcowa masa ciała przy zbliżonym zużyciu paszy.

Wydajność brojlerów kurzych utrzymywanych w dwóch grupach, oceniono w oparciu o Europejski Wskaźnik Wydajności (EBI). Współczynnik ten standaryzuje wyniki odchowu, uwzględniając parametry produkcyjne. Im wyższe wartości wskaźnika, tym lepsza wydajność i zdrowotność ptaków (Bhamare i in., 2016; Kryeziu i in., 2018).

W badaniach własnych EBI oscylował na poziomie: 349,77-407,21. Parametr ten był wyższy w grupie Bp, co było powtarzalne w każdym doświadczeniu. Jakkolwiek, w doświadczeniu I był zbliżony w obu grupach. Prawdopodobnie było to wynikiem tego, że ptaki w grupie L osiągnęły wyższą masę ciała na koniec odchowu, co mogło być efektem tego, iż stado miało średnią początkową masę ciała istotnie wyższą (w porównaniu do ptaków z grupy Bp). Poza tym, w oparciu o powyższe wyniki nie odnotowano, aby farba biobójcza obniżyła wyniki produkcyjne w kolejnych doświadczeniach. Zostało to potwierdzone w oparciu o parametr EBI, który nie malał wraz z kolejnym doświadczeniem.

Nie odnotowano, aby średnie parametrów produkcyjnych uległy pogorszeniu wraz z upływem czasu od zastosowania farby biobójczej.

4.5. Wybrane wskaźniki biochemiczne krwi

Zmiany w składzie chemicznym krwi mogą być pierwszym symptomem rozwijającej się choroby, bądź też zatrucia substancjami toksycznymi (Jurani i in., 2004; Rajman i in., 2006; Özeby i Esen, 2007; Tessari i in, 2010; Erdelyi i in., 2011). W porównaniu do innych gatunków zwierząt, u drobiu istnieje pewna trudność w interpretacji uzyskanych wyników badań wskaźników krwi. Ptaki charakteryzuje duża zmienność osobnicza, co powoduje występowanie szerokich przedziałów wartości fizjologicznych (Fritz i in., 2000; Piotrowska i in., 2011; Kowalczuk-Vasilew i in., 2017).

Wątroba jest centralnym ośrodkiem wielu czynności trawiennych, metabolicznych i produkcyjnych. W związku z tym jest podatna na uszkodzenia. Są one potwierdzane

w oparciu o stężenie w surowicy krwi określonych enzymów wątrobowych. Enzymy te, w zależności od ich poziomu, mogą powodować pewne zakłócenia funkcji organizmu, skutkując w ten sposób złym stanem zdrowia i słabą wydajnością produkcyjną. AST, ALT i GGT są bioindykatorami funkcjonowania wątroby. Dlatego też podwyższony poziom tych enzymów jest związany najczęściej z uszkodzeniem wątroby (Aikpitanyi i Egweh, 2020).

W badaniach własnych odnotowano, iż tylko w przypadku cholesterolu oraz triacylogliceroli w II i III doświadczeniu wykazano tendencję do zmian, w zależności od zastosowanej metody dezynfekcji. Istotnie wyższe wartości potwierdzono w grupie Bp. Jednak różnice te były na granicy istotności. Natomiast analizując wskaźniki: AST, ALT, GGT i mocznik nie odnotowano istotnych różnic między grupami. Nie odnotowano również istotnego wpływu zastosowania długookresowej farby biobójczej na wybrane parametry krwi (Tab. 7).

Tabela 7. Średnie wartości wybranych wskaźników biochemicznych krwi

Wskaźniki	**I**		**II**		**III**	
	L	**Bp**	**L**	**Bp**	**L**	**Bp**
AST (u/l)	338,73 ±56,23	329,92 ±56,39	281,08 ±88,02	291,76 ±88,90	301,04 ±60,59	328,79 ±55,81
ALT (u/l)	2,78 ±0,05	2,79 ±0,11	2,71 ±0,09	2,65 ±0,03	2,67 ±0,10	2,71 ±0,11
GGT (u/l)	20,01 ±1,31	21,72 ±1,75	19,98 ±1,15	20,99 ±1,44	22,21 ±2,18	21,91 ±1,64
Mocznik (mg/dl)	1,21 ±0,23	1,28 ±0,12	1,38 ±0,28	1,30 ±0,21	1,29 ±0,15	1,25 ±0,10
Cholesterol (mg/dl)	169,21 ±5,34	168,77 ±7,21	153,47^{b} ±4,98	171,58^{a} ±11,21	151,56^{b} ±5,01	169,26^{a} ±9,58
Triacyloglicerole (mg/dl)	128,09 ±2,32	126,07 ±2,61	117,25^{b} ±2,09	125,49^{a} ±2,58	115,28^{b} ±1,99	128,51^{a} ±2,78

Oznaczenia: L – grupa L; Bp – grupa Bp; I,II,III – nr doświadczenia; a,b – istotne różnice poszczególnych parametrów między grupą L i Bp; ± odchylenie standardowe (SD); AST – aminotransferaza asparaginianowa; ALT – aminotransferaza alaninowa; GGT – transpeptydaza gamma-glutamylowa

Wielu badaczy podaje, że poziom aktywności AST wzrasta wraz z wiekiem kurcząt (Silva i in., 2007; Tessari i in., 2010; Kudair i Hussary, 2010). Jakkolwiek, zwiększający się lub zbyt wysoki poziom aktywności AST, może wskazywać na zatrucie organizmu substancjami toksycznymi. Jak podają Kokore i in. (2021) referencyjne wartości dla poziomu AST nie powinny przekraczać 230 u/l. W badaniach własnych zarówno w grupie L, jak i Bp, parametr ten był nieco wyższy. Podczas całego doświadczenia średnia wartość mieściła się w przedziale 281,08-338,73 u/l. Istotnym ograniczeniem wykorzystania tego enzymu jako wskaźnika stopnia uszkodzenia wątroby jest fakt, iż wykazuje on również aktywność w innych narządach (sercu, nerkach, mózgu i mięśniach szkieletowych) (Tessari

i in., 2010). Dlatego też, w celu określenia funkcjonowania wątroby, dodatkowo wykonano badanie poziomu aktywności ALT (Ozer i in., 2008). W badaniach własnych, nie stwierdzono istotnych różnic w poziomach ALT w surowicy krwi ptaków, w zależności od zastosowanej metody dezynfekcji i dezynsekcji. Aktywność enzymu była na zbliżonym poziomie w obu badanych grupach ptaków.

Wskaźnikiem niezbędnym w diagnostyce schorzeń wątroby jest ocena poziomu aktywności GGT. Najwyższy poziom aktywności GGT najczęściej stwierdza się w 35 dniu odchowu kurcząt. Może mieć to związek z najwyższym spożyciem paszy przez ptaki w piątym tygodniu odchowu, co z kolei wpływa na zwiększenie przemian metabolizmu w wątrobie (Silva i in., 2007). W badaniach własnych wskaźnik ten oscylował w graniach 19,98-22,21 u/l. Zbliżone wartości GGT zaobserwowano w wynikach analiz Safaeikatouli i in. (2010) (20,40-23,15 u/l). Natomiast, wyższą aktywność enzymu w surowicy krwi brojlerów w badaniach własnych uzyskano w porównaniu z badaniami Subapriya i in. (2007) – około 5,5 u/l. Wyniki badań własnych oraz cytowanych autorów potwierdzają wysoką zmienność osobniczą u ptaków poziomu GGT, a także wpływ wielu czynników na wartości tego parametru. Dlatego biorąc pod uwagę analizowane wskaźniki surowicy krwi, prawdopodobnie nie ma negatywnego wpływu farby biobójczej na kształtowanie się ocenianych wskaźników (na status fizjologiczny ptaków).

Badania nad poziomem mocznika w surowicy krwi ptaków i jego znaczeniem dla organizmu ptaków, podejmowane były już w pierwszej połowie XX wieku (Dyer i Roe, 1933; Howell, 1939). Jako normatywny poziom tego związku podawano 3,3-7,2 mg/dl. Mocznik jest końcowym produktem przemiany białek w organizmie. Jego wysoki poziom w organizmie może oznaczać zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu nerek. Duża ilość białka w diecie ptaków, prowadzi najczęściej do jego zwiększonego wydalania z organizmu (Karsawa i Maeda, 1994). W badaniach własnych, aby wykluczyć wpływ tego czynnika na organizm ptaków, zastosowano jednakowe żywienie w każdym doświadczeniu, podając tą samą ilość białka w paszy dla obu grup badawczych. Uzyskane wyniki wykazały, że poziom mocznika w surowicy krwi brojlerów zarówno w grupie L, jak i Bp, utrzymywał się w granicach 1,21-1,38 mg/dl. Można uznać, że średnie wartości parametru były prawidłowe. Świadczy to także o dobrym wykorzystaniu białka z paszy oraz braku substancji toksycznych w najbliższym otoczeniu ptaków (Nworgu i in., 2007; Polat i in., 2011).

Wyższe wartości w stężeniu cholesterolu oraz triacylogliceroli we krwi kurcząt z grupy Bp mogą być wynikiem uzyskania istotnie wyższej masy ciała ptaków. Cholesterol pochodzi z dwóch źródeł: z paszy (cholesterol egzogenny) oraz może być wytwarzany przez

sam organizm (cholesterol endogenny) (Regar i in., 2019). Ponadto, na poziom cholesterolu we krwi lub surowicy krwi duży wpływ mają czynniki genetyczne, pasza i leki (Hargis, 1988). Z kolei głównymi czynnikami, które wpływają na poziom triacylogliceroli w surowicy krwi są: żywienie, hormony i choroby (Regar i in., 2019).

W grupie L stężenie cholesterolu we krwi ptaków mieściło się w granicach 151,56-169,21 mg/dl, a w Bp: 168,77-171,58 mg/dl. Natomiast w przypadku stężenia triacylogliceroli, wartości te wynosiły odpowiednio 115,28-128,09 mg/dl i 125,49-128,51 mg/dl. Jak podają Regar i in. (2019), za prawidłowy poziom cholesterolu u kurcząt uznaje się w granicach: 125,00-200,00 mg/dl, a triacylogliceroli: ≤ 150,00 mg/dl. Biorąc pod uwagę wyniki badań własnych, nawet najwyższe średnie wartości parametrów w badaniach własnych nie przekraczały wartości referencyjnych.

W oparciu o wyniki badań własnych stwierdzono, że farba biobójcza jest skutecznym środkiem dezynfekcyjnym i dezynsekcyjnym oraz nie przypisuje się negatywnego wpływu farby biobójczej na warunki mikroklimatyczne i jakość ściółki, a także parametry odchowu ptaków oraz wybrane wskaźniki biochemiczne krwi. Uzyskane wyniki badań własnych stanowią nie tylko wartość naukową, ale również wnoszą istotne wskazówki przydatne w praktyce produkcyjnej dla producentów drobiu. Mogą one znacząco wpłynąć na poprawę warunków higienicznych na fermach oraz stanowić podstawę do opracowania w pełni skutecznej i efektywnej procedury higienicznej. Ponadto, niniejsza rozprawa doktorska może wytyczyć nową ścieżkę badawczą. W szerszym kontekście wyniki badań własnych mogą przyczynić się do ograniczenia stosowania substancji chemicznych w rolnictwie, co jest zgodne z zasadą zrównoważonego rozwoju. Jakkolwiek, niezbędne są dalsze badania w tym kierunku.

5. WNIOSKI

Wyniki, uzyskane w przeprowadzonych badaniach, pozwalają na sformułowanie następujących uogólnień i wniosków:

1. Zastosowanie farby biobójczej w kurnikach dla kurcząt brojlerów jako środka dezynfekcyjnego wykazującego właściwości owadobójcze, nie jest metodą w pełni skuteczną w bezpośrednim zwalczaniu *A. diaperinus*, ale może być pomocną w monitorowaniu i kontroli jego obecności oraz planowaniu nowych strategii zwalczania owada.
2. Wyniki badań wskazują, że zastosowanie farby biobójczej w kurniku istotnie zmniejszyło zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza oraz nie pogorszyło jakości ściółki. Ponadto nie skutkowało obniżeniem wydajności kurcząt brojlerów oraz nie wpłynęło negatywnie na wybrane wskaźniki biochemiczne krwi. Jednak potrzebne są dalsze badania (np. histopatologiczne) w celu potwierdzenia czy substancje aktywne nie oddziałują toksycznie na organim ptaków.
3. Środek dezynfekcyjny w postaci farby biobójczej zawierający aktywne substancje owadobójcze jest skuteczniejszym zabiegiem higienicznym niż wapnowanie oraz może być zalecany do stosowania w kurnikach.

Dodatkowo sformułowano rekomendacje dla praktyki zootechnicznej:

1. Farba biobójcza jest skuteczniejszą, jak również mniej pracochłonną metodą higieniczną niż wapnowanie. Zastosowana raz w roku, pozwala zaoszczędzić czas, dając lepsze bądź zbliżone efekty do stosowanego każdorazowo przed rozpoczęciem cyklu produkcyjnego wapnowania.
2. Po zastosowaniu farby biobójczej *A. diaperinus* gromadził się w środkowej części kurnika. Jeśli znane są miejsca, w których owady mogą występować najliczniej, można zastosować dodatkowe narzędzia ochrony przed szkodnikami. Wskazane jest zastosowanie metod kombinowanych: uzupełnienie farby biobójczej np. naturalnym dodatkiem do ściółki, co jednocześnie mogłoby zapobiec narastaniu oporności *A. diaperinus* na substancje chemiczne. Co więcej, uwzględnienie płci owada w warunkach produkcyjnych może okazać się skuteczne w jego zwalczaniu. Jest to ważne, ponieważ warto byłoby zbadać czy wrażliwość na insektycydy jest inna u samców i samic.

3. Zachęcanie producentów drobiu do wykonywania regularnego oznaczania wrażliwości owadów na insektycydy oraz lekooporności drobnoustrojów izolowanych z kurników pozwoliłoby na rotację substancji biologicznie czynnych. Mogłoby to wpłynąć na zmniejszenie oporności owadów na insektycydy i drobnoustrojów na antybiotyki w danej populacji. W szerszym kontekście umożliwiłoby ograniczenie stosowanych substancji chemicznych w rolnictwie.

6. PIŚMIENNICTWO

1.Abd Ali S. A. Z., Joubert A., Andrès Y. **(2021)**. Evaluation of antimicrobial effect of zinc pyrithione against airborne fungi and bacteria growth collected onto new and loaded HVAC fibrous filters. Processes, 9: 1528, doi: https://doi.org/10.3390/pr9091528.

2.Abreu V.M.N., de Abreu P.G., Jaenisch F.R.F., Coldebella A., de Paiva D.P. **(2011)**. Effect of floor type (dirt or concrete) on litter quality, house environmental conditions, and performance of broilers. Revista Brasileira de Ciencia Avicola, 13: 127–137, doi: https://doi.org/10.1590/S1516-635X2011000200007.

3.Aikpitanyi K. U., Egweh N.O. **(2020)**. Haematological and biochemical profile of broiler chickens fed diets containing ginger and black pepper additives. Nigerian Journal of Animal Science, 22: 114-125.

4.Alali W.Q., Hofacre C.L. **(2016).** Preharvest food safety in broiler chicken production. Microbiology Spectrum, 4: 69–86, doi: https://doi.org/10.1128/microbiolspec.PFS-0002-2014.

5.Al Homidan A., Robertson J.F., Petchey A.M. **(2003)**. Review of the effect of ammonia and dust concentrations on broiler performance. World's Poultry Science Journal, 59: 340–349, doi: https://doi.org/10.1079/WPS20030021.

6.Amelotti I., Catala S., Gorla D. **(2009)**. Experimental evaluation of insecticidal paints against *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae), under natural climatic conditions. Parasites and Vectors, 2: 30–36, doi: https://doi.org/10.1186/1756-3305-2-30.

7.Arné P., Thierry S., Wang D., Deville M., Le Loc'h G., Desoutter A., Féménia F., Nieguitsila A., Huang W., Chermette R., Guillot J. **(2011)**. *Aspergillus fumigatus* in poultry. The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 746356, doi: https://doi.org/10.1155/2011/746356.

8.Aviagen. **(2019)**. Ross 308 performance objectives.

9.Battersby T., Walsh D., Whyte P., Bolton D. **(2017)**. Evaluating and improving terminal hygiene practices on broiler farms to prevent Campylobacter cross-contamination between flocks. Food Microbiology, 64: 1-6, doi: https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.018.

10.Battersby T., Whyte P., Bolton D. **(2016)**. The pattern and sources of Campylobacter on broiler farms. Journal of Applied Microbiology, 120: 1108-1118, doi: https://doi.org/10.1111/jam.13066.

11. Bhamare K. S., Dildeep V., Senthil M. S., Chavan S. J. **(2016)**. Nutritive evaluation of cashew apple waste in broilers. International Journal of Science and Nature, 7: 629 632.
12. Biesek J., Kuźniacka J., Banaszak M., Kaczmarek S., Adamski M., Rutkowski A., Zmudzińska A., Perz K., Hejdysz M. **(2020)**. Growth performance and carcass quality in broiler chickens fed on legume seeds and rapeseed meal. Animals, 10: 846, doi: https://doi.org/10.3390/ani10050846.
13. Bissinger B.W., Apperson C.S., Watson D.W., Arellano C., Sonenshine D.E., Roe R.M. **(2011)**. Novel field assays and the comparative repellency of BioUD®, DEET and permethrin against *Amblyomma americanum*. Medical and Veterinary Entomology, 25: 217–226.
14. Blanchard C., Brooks L., Ebsworth-Mojica K., Didione L., Wucher B., Dewhurst S., Krysan D., Dunman P.M., Wozniak R.A.F. **(2016)**. Zinc Pyrithione Improves the Antibacterial Activity of Silver Sulfadiazine Ointment. mSphere, 14: 19416, doi: https://doi.org/10.1128/mSphere.00194-16.
15. Bodi S.G., Garcia A.V., García S.V., Orenga C.M. (2013). Litter aeration and spread of *Salmonella* in broilers. Poultry Science, 92: 2005–2011, doi: https://doi.org/10.3382/ps.2013-03078.
16. Borgna P., Carmellino M.L., Natangelo M., Paganil G., Pastoni F., Pregnolato M., Terrenil M. **(1996).** Antimicrobial activity of N-hydroxyalkyl 1,2-benzisothiazol-3(2H)-ones and their thiono analogues. European Journal of Medicinal Chemistry, 31: 919–925, doi: https://doi.org/10.1016/S0223-5234(97)89857-1.
17. Bródka K., Kozajda A., Buczyńska A., Szadkowska-Stańczyk I. **(2012)**. The variability of bacteria aerosol in poultry houses depending on selected factors. International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health, 25: 281–293, doi: https://doi.org/10.2478/S13382-012-0032-8.
18. Cavia R., Guidobono J. S., Fraschina J., Buch M. **(2019)**. Effects of physical barriers and eradication on recolonization of rodents in poultry farms. International Journal of Pest Management, 65: 370-380, doi: https://doi.org/10.1080/09670874.2018.1530485.
19. Chen G., Ma D., Huang Q., Tang W., Wei M., Li Y., Jiang L., Zhu H., Yu X., Zheng W. **(2021)**. Aerosol concentrations and fungal communities within broiler houses in different broiler growth stages in summer. Frontiers in Veterinary Science, 8: 775502, doi: https://doi.org/10.3389/fvets.2021.775502.
20. Chernaki-Leffer A.M., Almeida L.M., Sosa-Gomez D.R., Anjos A., Vogado K.M. **(2007)**. Populational fluctuation and spatial distribution of *Alphitobius diaperinus*

(Panzer) (Coleoptera; Tenebrionidae) in a poultry house, Cascavel, Parana State, Brazil. Brazilian Journal of Biology, 67: 209-213. doi: https://doi.org/10.1590/s1519-69842007000200005.

21. Colombino E., Ferrocino I., Biasto I., Cocolin L. S., Prieto-Botella D., Zduńczyk Z., Jankowski J., Milala J., Kosmala M., Fotschki B., Capucchio T. M., Juśkiewicz J. **(2020)**. Dried fruit pomace inclusion in poultry diet: growth performance, intestinal morphology and physiology. Journal of Animal Science and Biotechnology, 11: 53, doi: https://doi.org/10.1186/s40104-020-00464-z.
22. Crump J.A., Griffin P.M., Angulo F.J. **(2002)**. Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness. Clinical Infectious Diseases, 35: 859–865, doi: https://doi.org/10.1086/342885.
23. de Castro Burbarelli M. F., do Valle Polycarpo G., Deliberali Lelis K., Granghelli C. A., Carão de Pinho A. C., Queiroz S. R. A., Fernandes A. M., de Souza R. L. M., Moro M. E. G., de Andrade Bordin R., de Albuquerque R. **(2017)**. Cleaning and disinfection programs against *Campylobacter jejuni* for broiler chickens: productive performance, microbiological assessment and characterization. Poultry Science, 96: 3188–3198, doi: https://doi.org/10.3382/ps/pex153.
24. de Castro Burbarelli M. F., Merseguel C. E. B., Ribeiro P. A. P., Lelis K. D., Polycarpo G. V., Carão de Pinho A. C., Bordin R. A., Fernandes A. M., Souza R. L. M., Moro M. E. G., de Albuquerque R. **(2015)**. The effects of two different cleaning and disinfection programs on broiler performance and microbiological status of broiler houses. Brazilian Journal of Poultry Science, 17: 575-580, doi: https://doi.org/10.1590/1516-635X1704575-580.
25. Despins J.L., Axtell R.C. **(1995)**. Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. *Poultry Sci*ence, *74*: 331-336. doi: https://doi.org/10.3382/ps.0740331.
26. Di Martino P. **(2020**). Ways to improve biocides for metalworking fluid. AIMS Microbiology, 7: 13–27, https://doi.org/10.3934/microbiol.2021002.
27. Dyer H. M., Roe J. H. **(1933)**. The chemistry of the blood of normal chickens. The Journal of Nutrition, 7: 623-626.
28. Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych (Dz. Urz. UE L 276 z 20.10.2010, str. 33, z późn. zm.).

29. Dyrektywa Rady 2007/43/WE z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie ustanowienia minimalnych zasad dotyczących ochrony kurcząt utrzymywanych z przeznaczeniem na produkcję mięsa (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. U. UE L 182 z 12.07.2007).
30. Dzik S., Mituniewicz T. **(2020)**. Effectiveness of biocidal paint containing permethrin, ultramarine and violet 23 against *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in laboratories and poultry houses. Animals, 10: 1461, doi: https://doi.org/10.3390/ani10091461.
31. Dzik S., Mituniewicz T., Beisenov A. **(2022)**. Efficacy of a biocidal paint in controlling *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) and improving the quality of air and litter in poultry houses. Animals, 12: 1264, doi: https://doi.org/10.3390/ani12101264.
32. Dzik S., Mituniewicz T., Załuski D. **(2022)**. Animals Science and Genetics
33. EC **(2019)**, EU agricultural outlook for markets and income, 2019-2030. European Commission, DG Agriculture and Rural Development, Brussels.
34. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). **(2021).** The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. *EFSA J*, *19*, 6971, https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6971.
35. EN-ISO 18593:2005 – Mikrobiologia łańcucha żywnościowego - Horyzontalne metody pobierania próbek z powierzchni (od 2018 r. zastąpiona: EN-ISO 18593:2018-08).
36. EN-ISO 21528-2:2005 – Mikrobiologia żywności i pasz - Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby *Enterobacteriaceae* - Część 2: Metoda płytkowa (od 2017 r. zastąpiona EN-ISO 21528-2:2017-08).
37. EN-ISO 6579-1:2017 – Mikrobiologia łańcucha żywnościowego - Horyzontalna metoda wykrywania, oznaczania liczby i serotypowania *Salmonella* - Część 1: Wykrywanie *Salmonella* spp.
38. Erdelyi M., Weber M., Balogh K., Ancsin Z., Mezes M. **(2011)**. The effect of feeding a diet naturally contaminated with deoxynivalenol on production traits and selected biochemical indicators of broiler chickens. Acta Veterinaria Brno, 80: 287-292, https://doi.org/10.2754/avb201180030287.
39. Fankhauser B.B., Dumont P., Hunter J.S., McCall J.W., Kaufmann C., Mathis A., Young D.R., Carroll S.P., McCall S., Chester S.T. **(2015)**. Repellent and insecticidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against three mosquito species (*Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*) on dogs. Parasites Vectors, 8: 64.

40.Feat A., Federle W., Kamperman M., van der Gucht J. (2019). Coatings preventing insect adhesion: An overview. Progress in Organic Coatings, 134: 349-359.

41.Firouzabadi A., Saadati D., Najimi M., Jajarmi M. **(2020)**. Prevalence and related factors of *Salmonella* spp. and *Salmonella Typhimurium* contamination among broiler farms in Kerman province, Iran. Preventive Veterinary Medicine, 175: 104838, https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104838.

42.Fries R., Akcan M., Bandick N., Kobe A. **(2005)**. Microflora of two different types of poultry litter. British Poultry Science, 46: 668-672.

43.Fritz Z., Kinal S., Schleicher A. **(2000)**. Zioła i preparaty ziołowe w żywieniu kurcząt brojlerów. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Zootechnika, 384: 57-68.

44.Gerber F.P., Gould N., McGahan E. **(2020)**. Potential contaminants and hazards in alternative chicken bedding materials and proposed guidance levels: A review. Poultry Science, 99: 6664–6684, doi: https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.047.

45.Hajati H., Hassanabadi A., Golian A., Nassiri-Moghaddam H., Nassiri M. R. **(2015)**. The effect of grape seed extract and vitamin C feed supplementation on some blood parameters and HSP70 gene expression of broiler chickens suffering from chronic heat stress. Italian Journal of Animal Science, 14: 1-9, doi: https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3273.

46.Hamza E., Dorgam S.M., Hamza D.A. **(2016)**. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in broiler poultry farming in Egypt. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 7: 8-10, doi: https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.06.004.

47.Hargis S.P. **(1988)**. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a review. World Poultry Journal Science, 44: 17–19.

48.Hartley D., Kidd H. **(1983)**. The Agrochemicals Handbook. Royal Society of Chemistry: Nottingham, UK.

49.He Y., Zhang J., Chen J., Shen J. **(2012)**. Using synergists to detect multiple insecticide resistance in field populations of rice stem borer. Pesticide Biochemistry and Physiology, 103: 121-126. doi: https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.04.008.

50.Hickmann F., de Morais A.F., Bronzatto E.S., Giacomelli T., Guedes J.V.C., Bernardi O. **(2018)**. Susceptibility of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), from broiler farms of southern Brazil to insecticides. Journal of Economic Entomology, 111: 980-985. doi: https://doi.org/10.1093/jee/toy059.

51.Hess J.B., Macklin K.S., McCrea B.A. **(2008)**. Litter beetle (*Alphitobius diaperinus* Panzer) counts in broiler houses treated with a range of insecticides. Journal of Applied Animal Research, 33: 127-131, doi: https://doi.org/10.1080/09712119.2008.9706913.

52.Howell S. F. **(1939)**. The determination of the urea in chicken blood. The Journal of Biological Chemistry, 128: 573-578.

53.Huber K., Gouilloud L., Zenner L. **(2007)**. A preliminary study of natural and experimental infection of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Histomonas meleagridis* (Protozoa: Sarcomastigophora). Avian Pathology, 36: 279-282. doi: https://doi.org/10.1080/03079450701447317.

54.Iisa A., Ruchira S. **(2015)**. An analysis of opportunities and challenges in poultry sector in Global and Indian perspectives. International Journal in Management & Social Science, 3: 27-35.

55.Iwańczuk-Czernik K., Witkowska D., Sowińska J., Wójcik A., Mituniewicz T. **(2007)**. The effect of a microbiological and a disinfecting preparation on the physical and chemical properties of litter and the results of broiler chicken breeding. Polish Journal of Environmental Studies, 22: 395–406.

56.Jiang L., Li M., Tang J., Zhao X., Zhang J., Zhu H., Yu X., Li Y., Feng T., Zhang X. **(2018)**. Effect of different disinfectants on bacterial aerosol diversity in poultry houses. Frontiers in Microbiology, 9: 2113, doi: https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02113.

57.Jones P.J., Niemi J., Christensen J. P., Tranter R. B., Bennett R. M. **(2018)**. A review of the financial impact of production diseases in poultry production systems. Animal Production Science, 59: 1585-1597, doi: https://doi.org/10.1071/AN18281.

58.Jørgensen S.L., Poulsen L.L., Thorndal L., Ronaghinia A.A., Bisgaard M., Christensen, H. **(2017)**. Characterization of *Enterococcus faecalis* isolated from the cloaca of 'fancy breeds' and confined chickens. Journal of Applied Microbiology, 122: 1149–1158, doi: https://doi.org/10.1111/jam.13416.

59.Jurani M., Vyboh P., Zeman M., Lamosova D., Kostal L., Blazicek P. **(2004)**. Post-hatching dynamics of plasma biochemistry in free-living European starlings (Sturnus vulgaris). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 138: 89-95.

60.Karasawa J., Maeda M. **(1994)**. Role of caeca in the nitrogen nutrition of the chicken fed on a moderate protein diet or a low protein diet plus urea. British Poultry Science, 35: 383-391.

61.Kaufman P.E., Reasor C., Murray K.D., Waldron J.K., Rutz D.A. **(2005)**. Evaluation of a barrier to inhibit lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Dermestidae*

movement in high-rise, caged-layer poultry facilities. Journal of Economic Entomology, 98: 1744-1749. doi: https://doi.org/10.1093/jee/98.5.1744

62.Khan S., Naz S., Sultan A., Alhidary I.A., Abdelrahman M.M., Khan R.U., Khan N.A., Khan M.A., Ahmad S. **(2016)**. Worm meal: a potential source of alternative protein in poultry feed. World's Poultry Science Journal, 72: 93-102.

63.Khempaka S., Mochizuki M., Koh K., Karasawa Y. **(2006)**. Effect of chitin in shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. The Journal of Poultry Science, 43: 339-343. doi: https://doi.org/10.2141/jpsa.43.250.

64.Kic P. **(2016)**. Microclimatic conditions in the poultry houses. *Agronomy Research, 14*: 82–90.

65.Koh K., Iwamae S. **(2013)**. Chitinolytic activity of mucosal enzymes in the different parts of the digestive tract in broilers. Japan Poultry Science, 50: 65-67. 10.2141/jpsa.0120054.

66.Kokore B.A., Bleyere N.M., Kamagate S., Yapo P.A. **(2021)**. Blood biochemical parameters exploration in broilers and local chickens in Korhogo, Côte d'Ivoire. American Journal of Food and Nutrition, 9: 82-86, doi: https://doi.org/10.12691/ajfn-9-2-4.

67.Kołacz R., Dobrzański Z. **(2019)**. Higiena i dobrostan zwierząt gospodarskich. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław.

68.Kostadinova G., Petkov G., Denev S., Miteva C., Stefanova R., Penev T. **(2014)**. Microbial pollution of manure, litter, air and soil in a poultry farm. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 20: 66–75.

69.Kowalczuk-Vasilev E., Grela E.R., Samolińska W., Klebaniuk R., Kiczorowska B., Krusiński R., Winiarska-Mieczan A., Kępka K., Kwiecień M. **(2017)**. Blood metabolic profile of broiler chickens fed diets with different types and levels of inulin. Veterinary Medicine – Science and Practice, 73: 774-780, doi: https://doi.org/10.21521/mw.5821.

70.Kozioł I., Krzywoń, M. **(2014)**. Stan przemysłu drobiarskiego w Polsce. Progress in Economic Sciences, 1: 85-98, doi: https://doi.org/10.14595/PIES/01/006.

71.Kryeziu A. J., Mestani N., Berisha S., Kamberi M. A. **(2018)**. The European performance indicators of broiler chickens as influenced by stocking density and sex. Agronomy Research 16: 483-491, doi: https://doi.org/10.15159/AR.18.040.

72.Kudair I. M., Al-Hussary N.A.J. **(2010)**. Effect of vaccination on some biochemical parameters in broiler chickens. Iraqi Journal of Veterinary Science, 24: 59-64, doi: https://doi.org/10.33899/ijvs.2010.5604.

73. Lambkin T.A. **(2005)**. Baseline responses of adult *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) to fenitrothion and susceptibility status of populations in Queensland and New South Wales, Australia. Journal of Economic Entomology, 98: 938–942, doi: https://doi.org/10.1603/0022-0493-98.3.938.
74. Lambkin T.A., Rice S.J. **(2006)**. Baseline responses of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to cyfluthrin and detection of strong resistance in field populations in eastern Australia. Journal of Economic Entomology, 99: 908-913. doi: https://doi.org/10.1603/0022-0493-99.3.908.
75. Lawniczek-Walczyk A., Górny R.L., Golofit-Szymczak M., Niesler A., Wlazlo A. **(2013)**. Occupational exposure to airborne microorganisms, endotoxins and β-glucans in poultry houses at different stages of the production cycle. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 20: 259–268.
76. Lee S.A., Adhikari A., Grinshpun S.A., McKay R., Shukla R., Reponen T. **(2006)**. Personal exposure to airborne dust and microorganisms in agricultural environments. Journal of Occupational and Environmental Hygiene, 3: 118–130, doi: https://doi.org/10.1080/15459620500524607.
77. Lonc E., Mazurkiewicz M., Doroszkiewicz W., Kołpa A., Mańka M. **(2001)**. Mikrobiologiczne zwalczanie larw chrząszczy *Alphitobius diaperinus* i *Tenebrio molitor* – szkodników paszy. Medycyna Weterynaryjna, 57: 258-262.
78. Lopes M., Roll V.F.B., Leite F.L., Dai Prá M.A., Xavier E.G., Heres T., Valente B.S. **(2013)**. Quicklime treatment and stirring of different poultry litter substrates for reducing pathogenic bacteria counts. Poultry Science, 92: 638–644, doi: https://doi.org/10.3382/ps.2012-02700.
79. Lyons B.N., Crippen T.L., Zheng L., Teel P.D., Swiger S.L., Tomberlin J.K. **(2017)**. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* in Texas to permethrin and *β*-cyfluthrin treated surfaces. Pest Management Science, 73: 562–567, doi: https://doi.org/10.1002/ps.4327.
80. Maertens H., De Reu K., Van Weyenberg S., Van Coillie E., Meyer E., Van Meirhaeghe H. **(2018)**. Evaluation of the hygienogram scores and related data obtained after cleaning and disinfection of poultry houses in Flanders during the period 2007 to 2014. Poultry Science, 97: 620–627, doi: https://doi.org/10.3382/ps/pex327.
81. Maloney K.K., Ancca-Juarez J., Salazar R., Borrini-Mayori K., Niemierko M., Yukich J.O., Naquira C., Keating J.A., Levy M.Z. **(2013)**. Comparison of insecticidal paint and deltamethrin against *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) feeding and mortality

in simulated natural conditions. Journal of Vector Ecology, 38: 6–11, doi: https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2013.12003.x.

82. McDermott P.F., Zhao S., Tate H. **(2018)**. Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella*. Microbiology Spectrum Journal, 6: 4, doi: https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0014-2017.

83. Milanov D., Knezevic S.D., Vidaković S., Pajic M., Živkov-Baloš M., Aleksic N. **(2019)**. Microbial contamination of poultry litter during fattening period. Biotehnologija u Stocarstvu, 35: 253–265, doi: https://doi.org/10.2298/BAH1903253M.

84. Mituniewicz T., Dzik S. **(2020)**. Characteristics of lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Medycyna Weterynaryjna, 76: 145-149, doi: https://doi.org/10.21521/mw.6376.

85. Mituniewicz T., Sowińska J., Wójcik A., Iwańczuk-Czernik K., Witkowska D., Banaś, J. **(2008)**. Effect of disinfectants on physicochemical parameters of litter, microbiological quality of poultry house air, health status and performance of broiler chickens. Polish Journal of Environmental Studies, 17: 745–750.

86. Mohammed A.A., Abbas R.J. **(2009)**. The effect of using fennel seeds (*Foeniculum vulgare* L.) on productive performance of broiler chickens. International Journal of Poultry Science, 8: 642-644.

87. Mosqueira B., Chabi J., Chandre F., Akogbeto M., Hougard J.M., Carnevale P., Mas-Coma S. **(2010b)**. Efficacy of an insecticide paint against malaria vectors and nuisance in West Africa-Part 2: Field evaluation. Malaria Journal, 9: 341, doi: https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-341.

88. Mosqueira B., Duchon S., Chandre F., Hougard J.M., Carnevale P., Mas-Coma S. **(2010a)**. Efficacy of an insecticide paint against insecticide-susceptible and resistant mosquitoes-Part 1: Laboratory evaluation. Malaria Journal, 9: 340, doi: https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-340.

89. Mottet A., Tempio G. **(2017)**. Global poultry production: current state and future outlook and challenges. Worlds Poultry Science Journal, 73: 245-256, doi: https://doi.org/10.1017/S0043933917000071.

90. Namata H., Welby S., Aerts M., Faes C., Abrahantes J.C., Imberechts H., Vermeersch, K., Hooyberghs J., Méroc E., Mintiens K. **(2009)**. Identification of risk factors for the prevalence and persistence of *Salmonella* in Belgian broiler chicken flocks. Preventive Veterinary Medicine, 90: 211–222, doi: https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.03.006.

91.Nechyporenko O.L., Berezovskyy A.V., Fotina T.I., Petrov R.V., Fotin A.I. **(2018)**. Efficiency of complex disinfecting measures in the conditions of poultry farming. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine, 92: 165–168, doi: https://doi.org/10.32718/nvlvet9234.

92.Nhung N.T., Chansiripornchai N., Carrique-Mas J.J. **(2017)**. Antimicrobial resistance in bacterial poultry pathogens: A review. Frontiers in Veterinary Science, 4: 126, https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00126.

93.Nworgu F.C., Ogungbenro S.A., Solesi K.S. **(2007)**. Performance and some blood chemistry indices of broiler chicken served fluted pumpkin (*Telfaria occidentalis*) leaves extract supplement. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 2: 90-98.

94.Ogden I.D., Dallas J.F., MacRae M., Roturlu O., Reay K.W., Leitch M., Thomson A.P., Sheppard S.K., Maiden M., Forbes K.J., Strachan N.J.C. **(2014)**. *Campylobacter* excreted into the environment by animal sources: prevalence, concentration shed, and host association. Foodborne Pathogens and Disease, 6: 1161-1170, doi: https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0327.

95.Ognik K., Sembratowicz I., Cholewińska E., Jankowski K., Kozłowski K., Juśkiewicz J., Zduńczyk Z. **(2017)**. The effect of administration of copper nanoparticles to chickens in their drinking water on the immune and antioxidant status of the blood. Animal Science Journal, 89: 579-588, doi: https://doi.org/10.1111/asj.12956.

96.Oppliger A., Charriere N., Droz P.O., Rinsoz T. **(2008)**. Exposure to bioaerosols in poultry houses at different stages of fattening; use of real-time PCR for airborne bacterial quantification. Annals of Occupational Hygiene, 52: 405-412, doi: https://doi.org/10.1093/annhyg/men021.

97.Ostović M., Ravić I., Kovačić M., Kabalin A.E., Matković K., Sabolek I., Pavičić Ž., Menčik S., Tomić D.H. **(2021)**. Differences in fungal contamination of broiler litter between summer and winter fattening periods. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 72: 140-147, doi: https://doi.org/10.2478/aiht-2021-72-3508.

98.Özeby O., Esen F. **(2007)**. The effects of breeding systems and stocking density on some blood parameters of rock partridges (*Alectoris graeca*). Poultry Science, 86: 420-422, doi: https://doi.org/10.1093/ps/86.2.420.

99.Ozer J., Ratner M., Shaw M., Bailey W., Schomaker S. **(2008)**. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. Toxicology, 245: 194-205, doi: https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.11.021.

100.Permatasari D.A., Witaningrum A.M., Wibisono F.J., Effendi M.H. **(2020)**. Detection and prevalence of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from poultry farms in Blitar, Indonesia. Biodiversitas, 21: 4642–4647, doi: https://doi.org/10.13057/biodiv/d211024.

101.Piotrowska A., Burlikowska K., Szymeczko R. **(2011)**. Changes in blood chemistry in broiler chickens during the fattening period. Folia Biologica, 59: 183-187.

102.Polat U., Yesilbag D., Eren M. **(2011)**. Serum biochemical profile of broiler chickens fed diets containing rosemary and rosemary volatile oil. Journal of Biological and Environmental Sciences, 5: 23-30.

103.Prabhaker N., Toscano N.C., Henneberry T.J. **(1998)**. Evaluation of insecticide rotations and mixtures as resistance management strategies for *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). Journal of Economic Entomology, 91: 820-826. doi: https://doi.org/10.1093/jee/91.4.820.

104.PubChem, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (dostęp: 28.01.2022).

105.Rajman M., Jurani M., Lamoxova D., Maeajova M., Sedlaekova M., Kostal L., Jezova D., Vyboh P. **(2006)**. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 145: 363-371, doi: https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.07.004.

106.Reeder N.L., Xu J., Youngquist R.S., Schwartz J.R., Rust R C., Saunders C.W. **(2011)**. The antifungal mechanism of action of zinc pyrithione. British Journal of Dermatology, 165: 9-12, doi: https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10571.x.

107.Regar M.N., Tulung B., Londok J.J.M.R., Moningkey S.A.E., Tulung Y.R.L. **(2019)**. Blood lipid profile of broiler chicken as affected by a combination of feed restriction and different crude fiber sources. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 387: 012053, doi: https://doi.org/10.1088/1755-1315/387/1/012053.

108.Rice S.J., Lambkin T.A. **(2009)**. A new culture method for lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. Journal of Applied Entomology, 133: 67-72. doi: https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2008.01314.x.

109.Ridley A. M., Morris V. K., Cawthraw S. A., Ellis-Iversen J., Harris A., Kennedy E. M., Newell D. G., Allen V. M. **(2011)**. Longitudinal molecular epidemiological study of thermophilic *Campylobacters* on one conventional broiler chicken. Applied and Environmental Microbiology, 77: 98-107, doi: https://doi.org/10.1128/AEM.01388-10.

110.Roche A.J., Cox N.A., Richardson L.J., Buhr R.J., Cason J.A., Fairchild B.D., Hinkle N.C. **(2009)**. Transmission of *Salmonella* to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Poultry Science, 88: 44-48. doi: https://doi.org/10.3382/ps.2008-00235.

111.Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 15 lutego 2010 r. w sprawie wymagań i sposobu postępowania przy utrzymywaniu gatunków zwierząt gospodarskich, dla których normy ochrony zostały określone w przepisach Unii Europejskiej (Dz. U. z 15.02.2010 nr 56 poz. 344).

112.Rumbos C.I., Karapanagiotidis I.T., Mente E., Athanassiou C.G. **(2018)**. The lesser mealworm *Alphitobius diaperinus*: a noxious pest or a promising nutrient source? Reviews in Aquaculture, 10: 1-20.

113.Safaeikatouli M., Jafariahangari Y., Baharlouei A. **(2010)**. Effects of dietary inclusion of sodium bentonite on biochemical characteristics of blood serum in broiler chickens. International Journal of Agriculture and Biology, 12: 877-880.

114.Salin C., Delettre Y.R., Cannavacciuolo M., Vernon P. **(2000)**. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. The European Journal of Soil Biology, 36: 107-115, doi: https://doi.org/10.1016/S1164-5563(00)01054-2.

115.Salin C., Delettre Y.R., Vernon P. **(2003)**. Controlling the mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler and turkey houses: Field trials with a combined insecticide treatment: Insect growth regulator and pyrethroid. Journal of Economic Entomology, 96, 126-130, doi: https://doi.org/10.1093/jee/96.1.126.

116.Savage S. **(1992)**. Reducing darkling beetles. Poultry Digest, 51, 34-36.

117.Scallan E., Hoekstra R.M., Angulo F.J., Tauxe R.V., Widdowson M.A., Roy S.L., Jones J.L., Griffin P.M. **(2011).** Foodborne illness acquired in the United States: Major pathogens. Emerging Infectious Diseases, 17: 15-17, doi: https://doi.org/10.3201/eid1701.p11101.

118.Schwartz J.R. **(2016)**. Zinc Pyrithione: A topical antimicrobial with complex pharmaceutics. Journal of Drugs in Dermatology, 15: 140-144.

119.Sharkey C.R., Fujimoto M.S., Lord N.P., Shin S., McKenna D.D., Suvorov A., Martin, G.J., Bybee S.M. **(2017)**. Overcoming the loss of blue sensitivity through opsin duplication in the largest animal group, beetles. Science Report, 7: 8.

120.Silva P.R.L., Reaitas Neto O.C., Laurentiz A.C., Junqueira O.M., Fagliari J.J. **(2007)**. Blood serum components and serum protein test of hybro-pg broilers of different ages.

Brazilian Journal of Poultry Science, 4: 229-232, doi: https://doi.org/10.1590/S1516-635X2007000400004.

121.Singh N. **(2011)**. Chemical ecology, population dynamics and insecticide susceptibility of lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae); University of Arkansas: Fayetteville, AR, USA.

122.Skóra J., Matusiak K., Wojewódzki P., Nowak A., Sulyok M., Ligocka A., Okrasa M., Hermann J., Gutarowska B. **(2016)**. Evaluation of microbiological and chemical contaminants in poultry farms. International Journal of Environmental Research and Public Health, 13: 192, doi: https://doi.org/10.3390/ijerph13020192.

123.Subapriya S., Vairamuthu S., Murali-Manohar B., Balachandran C. **(2007)**. Clinicopathological investigation on thiram toxicosis in broiler chicken. International Journal of Poultry Science, 6: 242-244, doi: https://doi.org/10.1016/10.3923/ijps.2007.242.244

124.Suzuki M., Fujimoto W., Goto M., Morimatsu M., Syuto B., Iwanaga T. **(2002).** Cellular expression of gut chitinase mRNA in the gastrointestinal tract of mice and chickens. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 50: 1081-1089, doi: https://doi.org/10.1177/002215540205000810.

125.Szőllősi L., Szűcs I. **(2014).** An economic approach to broiler production. A case study from Hungary. Annals of The Polish Association of Agricultural and Agribusiness, 16: 275-281.

126.Tessari E.N.C., Kobashigawa E., Cardoso A.L.S.P., Ledoux D.R., Rottinghaus G.E., Oliviera C.A.F. **(2010)**. Effects of aflatoxin B1 and fumonisin B1 on blood biochemical parameters in broilers. Toxins, 2: 453-460, doi: https://doi.org/10.3390/toxins2040453.

127.TIBCO Statistica, v. 13.3.0. **(2017).** TIBCO Software Inc.: Palo Alto, CA, USA.

128.Tomberlin J.K., Richman D., Myers H.M. **(2008)**. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) from broiler facilities in Texas to four insecticides. Journal of Economic Entomology, 101: 480-483, doi: https://doi.org/10.1603/0022-0493(2008)101[480:soadct]2.0.co;2.

129.Tomi, D., Ravić I., Kabalin A.E., Kovacić M., Gottstein Ž., Ostović M. **(2021).** Effects of season and house microclimate on fungal flora in air and broiler trachea. Atmosphere, 12: 459, doi: https://doi.org/10.3390/atmos12040459.

130.Ustawa z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych (Dz. U. z 2021, poz. 1331 z późn. zm).

131. Utnik-Banaś K. **(2017)**. Progress versus production costs of live broiler chickens in Poland between 1994 and 2015. Zagadnienia Ekonomiki Rolnej, 3: 60-73, doi: https://doi.org/ 10.30858/zer/83032.

132. Van Limbergen T., Sarrazin S., Cantziaras I., Dewulf J., Ducatelle R., Kyriazakis I., McMullin P., Méndez J., Niemi J.K., Papasolomontos S., Szeleszczuk P., Van Erum J., MaesD. **(2020)**. Risk factors for poor health and performance in European broiler production systems. BMC Veterinary Research, 16: 287, doi: https://doi.org/10.1186/s12917-020-02484-3.

133. Viegas C., Carolino E., Malta-Vacas J., Sabino R., Viegas S., Veríssimo C. **(2012).** Fungal contamination of poultry litter: A public health problem. The Journal of Toxicology and Environmental Health, 75: 1341–1350, doi: https://doi.org/10.1080/15287394.2012.721165.

134. Vučemilo M., Matković K., Vinković B., Jakšić S., Granić K., Mas N. **(2007).** The effect of animal age on air pollutant concentration in a broiler house. Czech Journal of Animal Science, 52: 170–174.

135. Vučemilo M., Matković K., Vinković B., Macan J., Varnai V.M., Prester L., Granić K., Orct T. **(2008).** Effect of microclimate on the airborne dust and endotoxin concentration in a broiler house. Czech Journal of Animal Science, 53: 83-89, doi: https://doi.org/10.17221/329-CJAS.

136. Wahyono N.D., Utami M.M.D. **(2018).** A review of the poultry meat production industry for food safety in Indonesia. Journal of Physics: Conference Series, 953: 121-25, doi: https://doi.org/10.1088/1742-6596/953/1//012125.

137. Windhorst H.W. **(2007)**. Changes in poultry production and trade worldwide. Worlds Poultry Science Journal, 62: 585-602, doi: https://doi.org/10.1017/S0043933906001140.

138. Witkowska D., Chorąży Ł., Mituniewicz T., Makowski W. **(2010).** Zanieczyszczenia mikrobiologiczne ściółki i powietrza podczas odchowu kurcząt brojlerów. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie, 10: 201-210.

139. Witkowska D., Sowińska J. **(2013).** The effectiveness of peppermint and thyme essential oil mist in reducing bacterial contamination in broiler houses. Poultry Science, 92: 2834-2843, doi: https://doi.org/10.3382/ps.2013-03147.

140. Witkowska D., Sowińska J., Murawska D., Matusevičius O., Kwiatkowska-Stenzel A., Mituniewicz T., Wójcik A. **(2019).** Effect of peppermint and thyme essential oil mist on performance and physiological parameters in broiler chickens. South African Journal of Animal Science, 49: 29-39, doi: http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v49i1.4.

141. Witkowska D., Sowińska J., Żebrowska J.P., Mituniewicz E. **(2016).** The antifungal properties of peppermint and thyme essential oils misted in broiler houses. Brazilian Journal of Poultry Science, 18: 629–638. https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0266.
142. Witkowska D., Szarek J., Iwańczuk-Czernik K., Sowińska J., Mituniewicz T., Wójcik A., Babińska I. **(2007).** Effect of disinfecting litter on rearing performance and results of blood indices and internal organs of broiler chickens. Medycyna Weterynaryjna, 63: 1115-1119.
143. Wolf J., Potrich M., Lozano E.R., Gouvea A., Pegorini C.S. **(2015).** Combined physical and chemical methods to control lesser mealworm beetles under laboratory conditions. Poultry Science, 94: 1145-1149, doi: https://doi.org/10.3382/ps/pev093.
144. Wójcik A., Chorąży Ł., Mituniewicz T., Witkowska D., Iwańczuk-Czernik K., Sowińska J. **(2010)**. Microbial air contamination in poultry houses in the summer and winter. Polish Journal of Environmental Studies, 19: 1045-1050.
145. Yang W., Guo M., Liu G., Yu G., Wang P., Wang H., Chai T. **(2018)**. Detection and analysis of fine particulate matter and microbial aerosol in chicken houses in Shandong Province, China. Poultry Science, 97: 995-1005, doi: https://doi.org/10.3382/ps/pex388.
146. Zaboli G. R., Rahimi S., Shariatmadari F., Torshizi M. A. K., Baghbanzadeh A., Mehri M. **(2017).** Thermal manipulation during Pre and Post-Hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress. Poultry Science, 96: 478-485, doi: https://doi.org/10.3382/ps/pew344.
147. Zaim M., Aitio A., Nakashima N. **(2000)**. Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. Medical and Veterinary Entomology, 14: 1-5.

STRESZCZENIE

Ocena skuteczności środka dezynfekcyjnego zawierającego permetrynę, ultramarynę i fiolet 23 w budynku dla kurcząt brojlerów

mgr inż. Sara Dzik

Znaczenie monitorowania bezpieczeństwa produktów spożywczych jest niezbędne już na etapie produkcji podstawowej. Mięso drobiowe zostało uznane za jeden z głównych nośników patogenów wśród produktów pochodzenia zwierzęcego, a bezpieczeństwo żywności jest priorytetem zarówno dla konsumentów, jak i producentów. W związku z tym, nieustannie zwiększająca się jego konsumpcja wiąże się z koniecznością podejmowania szeregu działań w celu utrzymania wysokiej produkcyjności kurcząt brojlerów i dobrej zdrowotności stada. Jednakże jest to działanie trudne i pomimo licznych badań naukowych oraz postępu w zapobieganiu i zwalczaniu chorób, a także wdrożeniu innowacyjnych rozwiązań technicznych i technologicznych, ochrona ptaków przed zakażeniami podczas odchowu stanowi nadal poważny problem w produkcji drobiarskiej. Dlatego dużą wagę należy przykładać do czynności związanych z zapewnieniem bezpieczeństwa biologicznego na fermie. Za główne źródła zagrożenia uznaje są: pracowników, sprzęt do obsługi zwierząt, inne zwierzęta gospodarskie oraz najbliższe otoczenie wokół budynku inwentarskiego w tym: owady (np. *Alphitobius diaperinus*), które nie są często odbierane jako zagrożenie oraz gryzonie i dzikie ptactwo. Kluczem do pomyślnego funkcjonowania ferm drobiu i zachowania bezpieczeństwa produktów drobiowych, są metody kształtowania warunków higienicznych, które szczególnego znaczenia nabierają w intensywnej produkcji.

Na rynku dostępna jest szeroka gama różnych środków umożliwiających utrzymanie odpowiednich warunków higienicznych na fermach drobiu, jednak w wątpliwość poddawana jest ich skuteczność. Wobec tego, niezbędna jest dokładna znajomość biologii i zachowania owadów, których populację należy ograniczyć w kurnikach dla brojlerów kurzych. Konieczne są także analizy mikrobiologiczne potwierdzające efektywność środków higienicznych nie tylko w warunkach laboratoryjnych, ale również w produkcyjnych, a także analiza ich wpływu na użytkowość i zdrowie brojlerów. W związku z powyższym, głównym celem badań była kompleksowa ocena możliwości

zastosowania w obiektach dla kurcząt brojlerów farby biobójczej, będącej nośnikiem przeciwdrobnoustrojowych i owadobójczych substancji aktywnych, jako długookresowego środka dezynfekcyjnego i dezynsekcyjnego.

Dla osiągnięcia postawionego celu rozprawy doktorskiej podjęto zadania badawcze opublikowane w czterech manuskryptach naukowych. W **artykule 1** (Mituniewicz i Dzik, 2020), w celu wprowadzenia do tematyki dotyczącej *A. diaperinus,* dokonano krytycznego przeglądu literatury. W oparciu o zgromadzone dane opisano istotę problemu występowania owada w produkcji drobiarskiej, jego biologię, szkodliwość i metody zwalczania. W **artykule 2** (Dzik i Mituniewicz, 2020) analizowano skuteczność farby biobójczej zastosowanej w kurniku, jako środek dezynfekcyjny działający również owadobójczo (przeciwko *A. diaperinus*). Ograniczanie liczebności owada w produkcji drobiarskiej jest zadaniem uzasadnionym i jednocześnie trudnym do wykonania. Należy jednak podejmować próby zwalczania *A. diaperinus*, gdyż stanowi poważne zagrożenie dla życia i zdrowia kurcząt, a także pracowników ferm. W **artykule 3** (Dzik i in., 2022) oceniano, poprzez kontrolę rozmieszczenia owadów w kurniku, czy farba biobójcza może okazać się skuteczna w monitoringu obecności *A. diaperinus*. Analizowano także czy jest to efektywny środek dezynfekcyjny oraz czy wpłynie na warunki mikroklimatyczne budynku i podstawowe parametry fizykochemiczne ściółki. W **artykule 4** (Dzik i in., 2022) sprawdzono czy zastosowana farba biobójcza, jako środek dezynfekcyjny zawierający w swym składzie również substancje owadobójcze, oddziałuje na parametry produkcyjne kurcząt brojlerów oraz wybrane wskaźniki biochemiczne krwi. Ponadto, w każdej pracy oceniano czy jako długookresowy środek higieniczny będzie efektywny podczas trwania całego okresu doświadczenia. Porównano także czy jest to metoda skuteczniejsza w utrzymaniu higieny w kurniku niż wapnowanie.

Wykazano, że zastosowanie farby biobójczej w kurnikach dla kurcząt brojlerów jako środka dezynfekcyjnego wykazującego właściwości owadobójcze, nie jest metodą w pełni skuteczną w bezpośrednim zwalczaniu *A. diaperinus*, ale może być pomocną w monitorowaniu i kontroli jego obecności oraz planowaniu nowych strategii zwalczania owada. Ponadto, zastosowanie farby biobójczej w kurniku istotnie zmniejszyło zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza, nie pogorszyło jakości ściółki oraz parametrów mikroklimatu, nie skutkowało obniżeniem wydajności kurcząt brojlerów oraz nie wpłynęło negatywnie na wybrane wskaźniki biochemiczne krwi. Jednak potrzebne są dalsze badania (np. histopatologiczne) w celu potwierdzenia, iż substancje aktywne nie oddziałują toksycznie na organizm ptaków. Wykazano również, że farba biobójcza jest

skuteczniejszym zabiegiem higienicznym niż wapnowanie oraz może być zalecana do stosowania w kurnikach jako środek długookresowy.

Wyniki badań własnych stanowią nie tylko wartość naukową, ale dostarczają wiedzę i narzędzia przydatne również w praktyce produkcyjnej dla producentów drobiu. Mogą one znacząco wpłynąć na poprawę warunków higienicznych na fermach oraz stanowić podstawę do opracowania skutecznej i efektywnej procedury higienicznej. Wobec tego sformułowano również kilka wniosków i rekomendacji dla praktyki zootechnicznej. Farba biobójcza jest skuteczniejszą metodą higieniczną, jak również mniej pracochłonną niż wapnowanie. Zastosowana raz w roku pozwala na zaoszczędzenie czasu, dając lepsze bądź zbliżone efekty do stosowanego każdorazowo przed rozpoczęciem cyklu produkcyjnego wapnowania. Po zastosowaniu farby biobójczej *A. diaperinus* gromadził się w środkowej części kurnika. Jeśli znane są miejsca, w których owady mogą występować najliczniej, można zastosować dodatkowe narzędzia ochrony przed szkodnikami. Być może warto byłoby zastosować metodę kombinowaną: uzupełnienie farby biobójczej np. naturalnym dodatkiem do ściółki, co jednocześnie mogłoby zapobiec narastaniu oporności *A. diaperinus* na popularnie stosowane substancje chemiczne. Co więcej, uwzględnienie płci owada w warunkach produkcyjnych może okazać się skuteczne w jego zwalczaniu. Jest to ważne, ponieważ wówczas można również zbadać czy wrażliwość na insektycydy jest inna u samców i samic. Zachęcanie producentów drobiu do wykonywania regularnego oznaczania wrażliwości owadów na insektycydy oraz lekooporności drobnoustrojów izolowanych z kurników pozwoliłoby na rotację substancji biologicznie czynnych. Mogłoby to wpłynąć na zmniejszenie oporności owadów na insektycydy i drobnoustrojów na antybiotyki w danej populacji.

Na podstawie badań własnych stwierdzono, że farba biobójcza jest skutecznym środkiem dezynfekcyjnym i dezynsekcyjnym oraz nie przypisuje się negatywnego wpływu farby biobójczej na warunki mikroklimatyczne i jakość ściółki, a także parametry odchowu ptaków oraz wybrane wskaźniki biochemiczne krwi. Ponadto, niniejsza rozprawa doktorska może wytyczyć nową ścieżkę badawczą. W szerszym kontekście wyniki badań własnych mogą przyczynić się do ograniczenia stosowania substancji chemicznych w rolnictwie, co jest zgodne z zasadą zrównoważonego rozwoju. Jakkolwiek, niezbędne są dalsze badania w tym kierunku.

Słowa kluczowe: higiena środowiska, dezynsekcja, pleśniakowiec lśniący, drobnoustroje, jakość ściółki, mikroklimat, produkcyjność kurcząt

SUMMARY

Evaluation of the efficacy of a disinfectant containing permethrin, ultramarine and violet 23 in broiler chicken house

Sara Dzik, MSc

The safety of food products should be closely monitored already at initial stages of production. Poultry meat is considered as one of the main pathogen carriers in the group of animal-based products, and food safety remains a priority for both consumers and producers. Due to an increase in poultry meat consumption, appropriate measures should be taken to maintain high broiler productivity and flock health. However, this is not an easy task; effective bird protection against infections poses a continuous challenge in poultry production despite numerous research studies and progress in disease prevention and treatment as well as the implementation of innovative technical and technological solutions. Therefore, particular attention should be paid to ensuring biological safety on the farm. The main sources of infection in poultry farming include employees, farm equipment, other livestock, the immediate environment, insects (e.g. *Alphitobius diaperinus*) – which often are not treated as a serious threat, rodents and wild birds. Properly selected disinfection and disinsection methods play a key role in poultry farms and contribute to maintaining the safety of poultry products, which is particularly important under intensive production systems.

Numerous commercial products are available for maintaining high hygiene standards in poultry farms, but their efficacy raises certain concerns. Therefore, the biology and behavior of insects whose populations are to be controlled in broiler houses should be thoroughly investigated. Microbiological analyses confirming the effectiveness of selected agents should be performed not only in the laboratory, but also on the farm, and the effects of these products on broiler performance and health should be determined. In view of the above, the main objective of this study was to comprehensively evaluate the efficacy of a biocidal paint containing antimicrobial and insecticidal active ingredients and its potential use as a long-lasting disinfectant and disinsectant in broiler houses.

In order to achieve the objective of doctoral research, several research tasks were performed, and the obtained results were described in four manuscripts. A critical literature

review regarding *A. diaperinus* was performed in the study described in **review article 1** (Mituniewicz and Dzik, 2020). Based on the acquired data on this pest insect affecting poultry production, its biology, harmful effects and control methods were described. **Research article 2** (Dzik and Mituniewicz, 2020) focused on an analysis of the efficacy of a biocidal paint applied in a poultry house as a disinfectant with insecticidal activity (against *A. diaperinus*). Control of pest insect populations in poultry houses is necessary, but difficult to achieve. Nevertheless, attempts should be made to control *A. diaperinus* because this beetle species constitutes a serious threat to human and animal life and health. The study described in **research article 3** (Dzik et al., 2022) investigated the spatial location of *A. diaperinus* in different sections of poultry houses to determine whether its presence can be effectively monitored with the use of a biocidal paint. The efficacy of this disinfectant was also analyzed, including its impact on microclimate conditions in the building and the basic physicochemical properties of litter. The study described in **research article 4** (Dzik et al., 2022) was conducted to determine whether the applied biocidal paint, as a disinfectant with insecticidal active ingredients, affects the performance and selected blood biochemical parameters of broilers. Moreover, each of the above studies evaluated whether the tested biocidal paint remained effective during the entire experiment and can be recommended as a long-lasting disinfection and disinsection method. Its effectiveness in maintaining high hygiene standards in poultry farms was also compared with that of liming.

It was found that the tested biocidal paint applied in broiler houses as a disinfectant with insecticidal properties is not a fully effective method for direct control of *A. diaperinus* infestations, but it can be useful for monitoring its presence and developing new control strategies. In addition, the application of the biocidal paint in poultry houses significantly reduced microbial air contamination, did not deteriorate litter quality or microclimate parameters, did not compromise broiler performance and had no negative influence on selected blood biochemical parameters. However, further research (including histopathological analyses) is needed to confirm that the active ingredients contained in the paint exert no toxic effects on birds. It was found that the tested biocidal paint was more effective than liming, and that it can be recommended as a long-lasting disinfectant and disinsectant in poultry houses.

The results of the presented doctoral research have scientific value and practical implications, providing the necessary knowledge and tools for poultry producers. They can considerably contribute to improving sanitary conditions in poultry farms, and provide a basis for developing effective hygiene procedures. Several conclusions and

recommendations for practitioners in the field of poultry farming were formulated. The analyzed biocidal paint is more effective and less laborious to apply than liming. The paint can be applied once a year only, which saves time, and its effects are better than or comparable with those of limewash that has to be applied before each production cycle. After the application of the biocidal paint, *A. diaperinus* individuals were located in the middle section of the building. If the places where pest insects are likely to be found in the highest numbers are known, additional pest management tools can be applied. For instance, a biocidal paint could be combined with a natural litter additive, which could also prevent the emergence of *A. diaperinus* resistance to popular chemical substances. Furthermore, taking into account the sex of pest insects could support effective control of their populations. This is an important consideration since males and females may differ in their sensitivity to insecticides. Poultry producers should regularly determine the insecticide susceptibility of insects and the drug resistance of microorganisms isolated from poultry houses so that biologically active ingredients could be used in rotation. Such measures could reduce insecticide and antimicrobial resistance in a given population.

The results of doctoral research revealed that the tested biocidal paint is an effective disinfectant and disinsectant; it has no significant effect on microclimate conditions, litter quality, performance parameters or selected blood biochemical parameters of birds. This doctoral dissertation may provide a new path for research. The present findings can contribute to reducing the use of chemicals in agriculture, which is consistent with the principles of sustainable development. However, more research is needed in this area.

Key words: environmental hygiene, disinsection, lesser mealworm, microorganisms, litter quality, microclimate, broiler performance

ZAŁĄCZNIKI

Załącznik 1a – artykuł 1 https://doi.org/10.21521/mw.6376

Med. Weter. 2020, 76 (3), 145-149 DOI: dx.doi.org/10.21521/mw.6376

Artykuł przeglądowy *Review*

Charakterystyka pleśniakowca lśniącego *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

TOMASZ MITUNIEWICZ, SARA DZIK

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 5/109, 10-719 Olsztyn

Otrzymano 20.08.2019 *Zaakceptowano 06.11.2019*

Mituniewicz T., Dzik S.

Characteristics of lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

Summary

The intensive increase in poultry production requires a variety of different measures to maintain high productivity of broiler chickens while maintaining a high level of bird welfare. One issue is the growing population of *Alphitobius diaperinus*, which occurs all over the world. This beetle is considered a pest in poultry production and causes major losses to poultry producers. Its development cycle consists of four stages: an egg, a larva, a pupa and an adult. It is necessary to reduce the number of these insects in poultry houses, in which they constitute a serious problem both for the birds and for the buildings themselves. The beetle does a lot of damage by tunnelling in floor and wall crevices, thus destroying the insulation of the building. It has been proved experimentally that the lesser mealworm is also a vector for many serious diseases of poultry and humans. The beetle infected with pathogens may remain infectious for a long time. *A. diaperinus* is a carrier of dangerous pathogens and viruses as well as protozoa and parasites in poultry. The lesser mealworm shows a noticeable sexual dimorphism. Correct and quick identification of the sex of *A. diaperinus* on poultry farms could facilitate insect control. Field and laboratory research is being conducted to find an effective method of reducing the population of the lesser mealworm.

Keywords: darkling beetle, insect pest, poultry production, poultry diseases

Problematyka dotycząca intensywnej produkcji drobiarskiej, a w szczególności ograniczenia liczby szkodników owadzich i ich toksycznego wpływu na zdrowie kurcząt oraz ludzi stanowi ważny obszar zainteresowań współczesnych badaczy. Obecnie zauważa się, że coraz więcej uwagi naukowcy poświęcają pleśniakowcowi lśniącemu *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), który swą popularność w literaturze naukowej zyskał pod koniec XX w. (2, 3, 13, 38). Jest to prawdopodobnie wynikiem dostrzegalnego popytu na mięso drobiowe i wzrostu liczebności ferm drobiarskich na całym świecie jednak, jak podają Chernaki-Leffer i wsp. (4), na dynamikę populacji owadów wpływ ma szereg czynników genetycznych i środowiskowych. Problem nadmiernej liczebności pleśniakowca lśniącego nie dotyczy tylko Polski, ale także wielu innych krajów na całym świecie, jak: Anglia, Włochy, Brazylia, Stany Zjednoczone, Australia (5, 14, 21, 26, 28, 44, 45, 48).

Występowanie *A. diaperinus*

Pleśniakowiec lśniący w literaturze zagranicznej określany jest jako: *lesser mealworm*, *darkling beetle*, *litter beetle* lub *shining black wheat beetle* (15, 17, 33, 44, 48, 49). Natomiast w Polsce najczęściej stosowanym określeniem jest chrząszcz ściółkowy lub czarnuch, co ma związek m.in. z jego systematyką (rząd – chrząszcze; rodzina – czarnuchowate) (19). *A. diaperinus* pierwotnie pochodzi z rejonów tropikalnych Afryki (10, 39). Owad popularnie występuje w kurnikach (7, 17, 31, 37, 47) zwłaszcza, gdy kurczęta utrzymywane są na ściółce (20, 36). Wysoka temperatura powietrza podczas odchowu kurcząt, zaleganie pomiotu kurzego, wysoka wilgotność względna powietrza oraz wilgotna ściółka – są to czynniki, które stwarzają korzystne warunki do rozwoju chrząszczy przez cały rok (4). Dodatkowo, Voris i wsp. (46) odnotowali sezonowość występowania owada (wraz ze wzrostem temperatury powietrza na zewnątrz, wzrasta jego liczebność w kurnikach).

Pleśniakowiec lśniący jest wszystkożerny – obecność owada została odnotowana w magazynach z produktami pochodzenia zwierzęcego (mączka mięsna, mączka rybna, suszone ryby, skóra i kości), roślinnego (pszenica, jęczmień, kukurydza, ryż) oraz skrobiowego (mąka, otręby). Zaobserwowano także, iż może on współistnieć z innymi owadami bytującymi w magazynach, silosach czy młynach, ale także ze spokrewnionymi gatunkami (*Alphitobius laevigatus*) (35). Odnotowano także, że larwy oraz dorosłe chrząszcze pleśniakowca lśniącego żywią się jajami ćmy zbożowej *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae) oraz jajami i larwami ćmy ryżowej *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) (40).

Biologia pleśniakowca lśniącego

Pleśniakowiec lśniący jest owadem, na którego cykl życiowy składają się cztery stadia rozwojowe. Okres rozwoju zależny jest od temperatury powietrza – im jest ona wyższa, tym przebiega on szybciej. Jeśli temperatura osiąga 30°C to cykl rozwojowy trwa około 20-40 dni. Natomiast w temperaturze 22°C ok. 90 dni (4). Za optimum rozwojowe uznaje się 20-30°C, chociaż owad toleruje szeroki zakres temperatur (0-40°C) (4, 25). Najwyższa temperatura powietrza, w której zaobserwowano ruch *A. diaperinus*, wyniosła 47,4°C (40). Po ekspozycji na działanie niskich temperatur (< 6°C) owad może zapaść w stan odwracalnej hibernacji, który spowodowany jest czasową niewydolnością układu nerwowego oraz mięśniowego. Wówczas dochodzi do znacznego spowolnienia funkcji życiowych na skutek działania niesprzyjających warunków środowiska (40). Owad potrafi przetrwać nawet zakres skrajnie niskich temperatur od –14,5°C do –10,3°C (32). Wspomniane właściwości pozwalają *A. diaperinus* zaadaptować się do ekstremalnie trudnych warunków i przetrwać (37, 40). Owad jest w stanie przeżyć 10,6 dni bez pożywienia (30). Co więcej, chrząszcze dzięki zdolności latania mogą przemieszczać się w szybkim tempie. Osobniki, które opuszczają budynki inwentarskie dla kurcząt, mogą być wychwytywane przez pułapki umieszczone kilka kilometrów od kurnika (40).

Dorosła samica *A. diaperinus* pierwsze jaja może składać po 11 dniach od momentu opuszczenia osłonek poczwarkowych (25). Jedna samica w ciągu całego życia może złożyć nawet 1000-1800 jaj (16). Rueda i Axtell (34) odnotowali, iż w temperaturze 25°C samice składały od 4 do 7 jaj w ciągu dnia. Jaja pleśniakowca lśniącego są okrągłe (średnica 1-1,5 mm), o kremowo-białej barwie i z czasem ciemnieją (35). Jaja wykluwają się w przeciągu 4-7 dni (11).

Etap larwalny owada trwa od 1 do 7 miesięcy. Wówczas larwy linieją od 6 do 11 razy, w zależności od warunków środowiskowych oraz dostępu do pokarmu (12, 35). Larwy są wydłużone, spiczasto zakończone, z wyraźnie zarysowaną głową (35). Mierzą około 7-11 mm długości, chociaż niektórzy autorzy podają długość między 12 a 19 mm (35). Początkowo są barwy mlecznej, a następnie (po około 8-krotnym linieniu) ciemnieją i stają się żółtobrązowe (12). Larwy posiadają 3 pary odnóży zlokalizowane w odcinku piersiowym, które umożliwiają im szybki ruch (12). Do przepoczwarczenia owada najczęściej dochodzi w miejscu ciepłym, wilgotnym i zaciemnionym (w ściółce czy w szczelinach ścian i podłogi) (35). Na czas trwania stadium poczwarki, który wynosi od 4 do 14 dni, znaczący wpływ ma temperatura. Poczwarki są kremowobiałe (do jasnobrązowych) i nie posiadają zdolności poruszania się (35).

Dorosły chrząszcz jest szeroko owalnego kształtu, o barwie czarnej lub brązowo-czarnej, wyraźnie połyskującej (18). Ma krótkie czółki, które rozszerzają się ku swoim końcom, szeroki *pronotum* oraz *elytrae* z rzędami punktów (rowków) służącymi do obrony bądź stabilizacji podczas ewentualnego lotu. Odnóża są czerwono-brązowe (25, 35). Dorosły osobnik osiąga długość przeważnie około 6 mm – w zależności od warunków bytowania: 5,0-8,0 mm (18, 25, 35). Po przepoczwarczeniu owad nie kopuluje ani nie odżywia się. Dojrzałość płciową osiąga po 3 dniach (25). Chrząszcze są długo żyjące, zazwyczaj przeżywają ponad rok. Natomiast w korzystnych warunkach mogą przetrwać nawet dłużej niż 2 lata. Zarówno u osobników dorosłych, jak i u larw wzmożona aktywność ujawnia się o zmierzchu. Chrząszcze w kurnikach najliczniej występują w pobliżu poideł, karmideł, pod padłymi ptakami, żerują także w paszy dla drobiu. Natomiast, kiedy temperatura otoczenia wyraźnie spada, *A. diaperinus* ukrywa się w zakamarkach budynku (40).

Dymorfizm płciowy

Zauważalny jest dymorfizm płciowy (11, 25), chociaż niektóre źródła podają, że pod względem wyglądu oraz wielkości dorosłe samce i samice są identyczne lub występują między nimi nieznaczne różnice (29). Esquivel i wsp. (11) podjęli próbę oceny, czy istnieją różnice między samicą a samcem *A. diaperinus*. Na podstawie badań stwierdzili, że skuteczną metodą jest różnicowanie względem genitaliów. Badacze podają, iż w sytuacji, gdy wywierany jest nacisk na tułów owada od strony brzusznej, natychmiast powinny uwidocznić się zewnętrzne narządy płciowe samicy. Na tej podstawie można przypuszczać, że dany osobnik jest płci żeńskiej, jakkolwiek wywieranie większego nacisku może uwidocznić także narząd kopulacyjny u samców. Badacze uważają, że szybkie określenie płci w warunkach terenowych na fermach drobiu mogłoby ułatwić zwalczanie owada, gdyż płeć prawdopodobnie determinuje m.in. jego szkodliwość, dlatego niezwykle istotne są dalsze badania w tym kierunku. Mogłoby to stanowić punkt wyjściowy w walce z populacją owada (11).

Szkodliwość *A. diaperinus*

Szkodliwość pleśniakowca lśniącego polega między innymi na tym, że żerując w szczelinach podłogi i ścian drąży kanały, obniżając w ten sposób właściwości termoizolacyjne kurnika (15, 47). Ma to miejsce głównie w czasie, gdy larwy wyszukują miejsca do przepoczwarczenia (2). Lonc i wsp. (27) podają, że na skutek uszkodzeń spowodowanych przez owada właściwości termoizolacyjne budynków inwentarskich dla drobiu mogą ulec obniżeniu nawet o 30%. Z kolei, Lyons i wsp. (28) odnotowali, iż koszty energii mogą być o blisko 70% wyższe w budynkach, gdzie pleśniakowiec lśniący występuje licznie. Dodatkowe nakłady ekonomiczne dotyczą naprawy konstrukcji budynku (10). Zniszczeniu mogą ulec materiały drewniane, panele izolacyjne z włókna szklanego, polistyrenu czy pianki (40).

Kiedy w kurniku utrzymywana jest niska wilgotność względna powietrza, owad ten gryzie skórę odpoczywających na ściółce ptaków (27, 37, 38) oraz żeruje pod ich skórą. Konsekwencją jest znaczące obniżenie poziomu dobrostanu ptaków. Ze względu na to, że ptaki zmuszone są do przebywania w ciągłym ruchu, dochodzi do zmniejszonych przyrostów masy ciała (37, 38). Na obniżone przyrosty wpływa także fakt, iż ptaki spożywają paszę wraz z bytującym w niej pleśniakowcem lśniącym (młode kurczęta mogą spożywać nawet ponad 30 g larw owada w ciągu dnia) (8). Kurczęta są niespokojne, gdyż trudno im strawić zarówno larwy, jak i dorosłe chrząszcze (40). Dzieje się tak, ponieważ mają ograniczoną aktywność chitolityczną w przewodzie pokarmowym (niedobór chitynazy – enzymu odpowiedzialnego za trawienie chityny, z której zbudowany jest pancerz owadów) (22, 24, 42). Strawność chityny u kurcząt brojlerów kształtuje się na poziomie około 18-24% (23). W konsekwencji może dojść do wzmożonego wydzielania soków trawiennych, obniżenia pH przewodu pokarmowego, a także niedrożności ściany jelita oraz innych zmian patologicznych dotyczących układu trawienia (40). W stadach, gdzie wystąpiły biegunki w pierwszych dwóch tygodniach życia, po których nastąpiło zahamowanie wzrostu znacznego odsetka kurcząt, w jelitach ptaków wykrywano fragmenty chrząszczy i larw pleśaniakowca lśniącego (9).

Zarówno larwy, jak i dorosłe chrząszcze *A. diaperinus* zagrażają życiu i zdrowiu ludzi oraz kurcząt brojlerów. Z przewodu pokarmowego owada oraz powierzchni jego ciała izolowane są drobnoustroje chorobotwórcze i wirusy. Bywa, że pleśniakowiec lśniący odżywia się martwymi lub chorymi ptakami, odchodami, ściółką czy paszą. Tym samym staje się rezerwuarem oraz kluczowym wektorem w rozprzestrzenianiu chorób drobiu. Drób może zarazić się poprzez zanieczyszczoną odchodami owada paszę oraz ściółkę (35). Do zakażenia może także dojść poprzez spożycie paszy przez kurczęta z zainfekowanym chrząszczem (33).

A. diaperinus jest wektorem bakterii patogennych (m.in. *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*), grzybów (*Aspergillus* spp., *Candida* spp.), pierwotniaków (*Eimeria* spp.), innych pasożytów drobiu, jak *Hymenolepis nana* (tasiemiec karłowaty) oraz wirusów (wywołujących chorobę Mareka, chorobę Gumboro, chorobę Newcastle, ptasią grypę, białaczkę u drobiu) (9, 27, 40). Badania naukowe dowodzą, iż *A. diaperinus* prawdopodobnie odpowiedzialny jest także za zwiększoną śmiertelność w stadzie kurcząt brojlerów spowodowaną hipoglikemią (9). Odnotowano także, iż larwy owada będące rezerwuarem *Salmonella typhimurium* są w stanie przenosić patogen nawet po sterylizacji powierzchniowej. Wobec tego prawdopodobne jest, iż dochodzi do transstadialnego przenoszenia bakterii (40).

Oprócz niewątpliwego znaczenia w rozprzestrzenianiu chorób u drobiu, *A. diaperinus* może pełnić funkcję rezerwuaru patogenów wywołujących choroby także u ludzi (np. zapalenie błony śluzowej żołądka, infekcje jelitowe). Owad odpowiedzialny jest również za liczne reakcje alergiczne diagnozowane u osób pracujących na fermach drobiu. *A. diaperinus* w obawie przed zagrożeniem (do samoobrony) produkuje wysoce aktywny benzochinon. Związek ten uznawany jest za silnie toksyczny i zagrażający życiu i/lub zdrowiu człowieka. Dolegliwości alergiczne u ludzi mogą objawiać się poprzez: astmę, bóle głowy, stany zapalne skóry, rumień, obrzęk naczynioruchowy, nieżyt nosa, zapalenie spojówki oka. Objawy alergiczne mogą wystąpić także u osób, które miały kontakt np. z paszą zainfekowaną przez odchody owada (9). Pleśniakowiec lśniący, ze względu na synantropijny charakter, doskonale przystosował się do bytowania w środowisku przekształconym przez człowieka, może szybko rozmnażać się i tworzyć liczne populacje, powodując uciążliwość dla społeczeństwa poprzez migrację do domów mieszkalnych i innych obiektów znajdujących się w pobliżu kurników (35).

Metody zwalczania

Zasadne jest opracowanie skutecznej metody, zwalczającej populację pleśniakowca lśniącego w obiektach drobiarskich (1). W obrębie omawianej tematyki w ośrodkach badawczych w Polsce i na świecie przeprowadzono szereg badań w warunkach laboratoryjnych. Prowadzone badania dotyczyły przede wszystkim wpływu różnych środków chemicznych (insektycydów), ale także składników bioaktywnych (43) na zredukowanie liczebności *A. diaperinus*. Wyniki prowadzonych badań wskazują jednak, że oporność pleśniakowca lśniącego na stosowane chemiczne środki owadobójcze wzrasta (5). Z tego powodu coraz większe zainteresowanie środowisk naukowych,

skierowane jest na alternatywne metody zwalczania *A. diaperinus*, jak np. wykorzystanie olejków eterycznych. Ponadto, niektóre substancje aktywne będące składnikiem insektycydów są szkodliwe dla zwierząt oraz ludzi, dlatego ważne jest znalezienie uniwersalnego i skutecznego rozwiązania (41). Co więcej, istotna jest analiza reakcji owadów na zastosowaną substancję czynną nie tylko w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych, ale również w naturalnym środowisku bytowania (warunki produkcyjne – zmienne parametry mikroklimatu) (47).

Pleśniakowiec lśniący jest gatunkiem znanym od dawna i postrzeganym jako szkodnik – zwłaszcza w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej. Ze względu na synantropijny charakter, pleśniakowiec lśniący przystosował się do bytowania w środowisku przekształconym przez człowieka. W kurnikach panują potencjalnie korzystne warunki do życia owada, dzięki czemu może się szybko rozmnażać i tworzyć liczne populacje, powodując tym samym uciążliwość dla producentów drobiu. Jego obecność w kurnikach wiąże się ściśle z stratami finansowymi na fermach drobiu (zwiększone koszty energii na skutek uszkodzonej warstwy termoizolacyjnej budynku). Liczne wyniki badań naukowych udowodniły, iż owad ten jest wektorem oraz rezerwuarem wielu patogenów i wirusów, które wywołują choroby u ptaków oraz ludzi. Wobec tego od wielu lat podejmuje się próby ograniczenia liczebności populacji szkodnika. Niestety, dowiedziono również, iż owad ten wykazuje oporność na działanie niektórych chemicznych środków owadobójczych, zatem coraz częściej poszukuje się alternatywnych, naturalnych metod odstraszających i owadobójczych. Niektórzy badacze sugerują także, iż identyfikacja płci w warunkach produkcyjnych mogłaby ułatwić zwalczanie owadów.

Piśmiennictwo

1. *Alves L. F. A., Oliveira D. G. P., Lambkin T., Bonini A. K., Alves V., Pinto F. G. S., Scur M. C.*: Beauveria bassiana applied to broiler chicken houses as biocontrol of Alphitobius diaperinus Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), an avian pathogens Vector. Braz. J. Poultry Sci. 2015, 17, 459-466.
2. *Axtell R. C., Arends J. J.*: Ecology and management of arthropod pests of poultry. Ann. Rev. Entomol. 1990, 35, 101-126.
3. *Casas E. de las, Harein P. L., Pomeroy B. S.*: Bacteria and fungi within the lesser mealworm collected from poultry brooder houses. Environ. Entomol. 1972, 1, 27-30.
4. *Chernaki-Leffer A. M., Almeida L. M., Sosa-Gomez D. R., Anjos A., Vogado K. M.*: Population fluctuation and spatial distribution of Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera; Tenebrionidae) in a poultry house, Cascavel, Parana state, Brazil. Braz. J. Biol. 2007, 67, 209-213.
5. *Chernaki-Leffer A. M., Sosa-Gómez D. R., Almeida L. M., Lopes I. O. N.*: Susceptibility of Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera, Tenebrionidae) to cypermethrin, dichlorvos and triflumuronin southern Brazil. Rev. Bras. Entomol. 2011, 55, 125-128.
6. *Crippen T. L., Sheffield C. L., Beier R. C., Nisbet D. J.*: The horizontal transfer of Salmonella between the lesser mealworm (Alphitobius diaperinus) and poultry manure. Zoonoses Public Hlth. 2018, 65, 23-33.
7. *Cruz W. O., Sinhori G. G. C., de Lima C. A. R., Pontes E. G.*: Biochemical properties of α-amylase from midgut of Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. Neotrop. Entomol. 2018, 47, 698-708.
8. *Despins J. L., Axtell R. C.*: Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, Alphitobius diaperinus. Poult. Sci. 1995, 74, 331-336.
9. *Dinev I.*: The darkling beetle (Alphitobius diaperinus) – a health hazard for broiler chicken production. Trakia J. Sci. 2013, 11, 1-4.
10. *Dzik S., Mituniewicz T.*: Pleśniakowiec lśniący – wektor wielu chorób w chowie kurcząt brojlerów cz. I. Polskie Drobiarstwo 2018, 3, 34-37.
11. *Esquivel J. F., Crippen T. L., Ward L. A.*: Improved visualization of Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) – part I: morphological features for sex determination of multiple stadia. Psyche 2012, 4, 1-7.
12. *Francisco O., Prado A. P.*: Characterization of the larval stages of Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) using head capsule width. Rev. Bras. Biol. 2001, 61, 125-131.
13. *Goodwin M. A., Waltman W. D.*: Transmission of Eimeria, viruses, and bacteria to chicks: Darkling beetles (Alphitobiusdiaperinus) as vectors of pathogens. J. Appl. Poult. Res. 1996, 5, 51-55.
14. *Hamm R. L., Kaufman P. E., Reasor C. A., Rutz D. A., Scott J. G.*: Resistance to cyfluthrin and tetrachlorvinphos in the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus, collected from the eastern United States. Pest Manag. Sci. 2006, 62, 673-677.
15. *Hess J. B., Macklin K. S., McCrea B. A.*: Litter beetle (Alphitobius diaperinus Panzer) counts in broiler houses treated with a range of insecticides. J. Appl. Anim. Res. 2008, 33, 127-131.
16. *Hosen M., Khan A. R., Hossain M.*: Growth and development of the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) on cereal flours. Pakistan J. Biol. Sci. 2004, 7, 1505-1508.
17. *Huber K., Goudoud L., Zenner L.*: A preliminary study of natural and experimental infection of the lesser mealworm Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae) with Histomonas meleagridis (Protozoa: Sarcomastigophora). Avian Pathol. 2007, 36, 279-282.
18. *Ignatowicz S.*: Szkodliwość i zwalczanie pleśniakowca lśniącego w fermach drobiarskich. Biul. Pol. Stow. Prac. Dezynf. Dezyns. Derat. 1996, 4, 21-22.
19. *Kaczmarowski M.*: Gatunki owadów zaliczone do zwierząt gospodarskich w Unii Europejskiej. Życie Wet. 2019, 94, 158-161.
20. *Kaufman P. E., Reasor C., Murray K. D., Waldron J. K., Rutz D. A.*: Evaluation of a barrier to inhibit lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) and Dermestidae movement in high-rise, caged-layer poultry facilities. J. Econ. Entomol. 2005, 98, 1744-1749.
21. *Kaufman P. E., Strong C., Rutz D. A.*: Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) adults and larvae exposed to two commercial insecticides on unpainted plywood panels. Pest Manag. Sci. 2008, 64, 108-111.
22. *Khan S., Naz S., Sultan A., Alhidary I. A., Abdelrahman M. M., Khan R. U., Khan N. A., Khan M. A., Ahmad S.*: Worm meal: a potential source of alternative protein in poultry feed. World Poult Sci. J. 2016, 72, 93-102.
23. *Khempaka S., Mochizuki M., Koh K., Karasawa Y.*: Effect of chitin in shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. J. Poult. Sci. 2006, 43, 339-343.
24. *Koh K., Iwamae S.*: Chitinolytic activity of mucosal enzymes in the different parts of the digestive tract in broilers. J. Poult. Sci. 2013, 50, 65-67.
25. *Korytkowska H.*: Pleśniakowiec lśniący. Ważny szkodnik polskich ferm. Hod. Drobiu 2012, 9, 32-36.
26. *Lambkin T. A.*: Baseline responses of adult Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) to fenitrothion and susceptibility status of populations in Queensland and New South Wales, Australia. J. Econ. Entomol. 2005, 98, 938-942.
27. *Lonc E., Mazurkiewicz M., Doroszkiewicz W., Kołpa A., Mańka M.*: Mikrobiologiczne zwalczanie larw chrząszczy Alphitobius diaperinus i Tenebrio molitor – szkodników paszy. Med. Weter. 2001, 57, 258-262.
28. *Lyons B. N., Crippen T. L., Zheng L., Teel P. D., Swiger S. L., Tomberlin J. K.*: Susceptibility of Alphitobius diaperinus in Texas to permethrin and β-cyfluthrin treated surfa ces. Pest Manag. Sci. 2016, 73, 562-567.
29. *Pospischil R.*: The litter beetle. Der Praktische Schädlingsbekämpfer. 1996, 48, 14-15.
30. *Rahman M. F., Hussain S., Rahman R.*: Alimentary canal and malpighian tubules of the adult Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Bangladesh J. Zool. 1991, 19, 21-28.
31. *Rice S. J., Lambkin T. A.*: A new culture method for lesser mealworm, Alphitobius diaperinus. J. App. Entomol. 2009, 133, 67-72.
32. *Renault D., Salin C., Vannier G., Vernon P.*: Survival and chill-coma in the adult lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae), expose to low temperatures. J. Thermal Biol. 1999, 24, 229-236.
33. *Roche A. J., Cox N. A., Richardson L. J., Buhr L. J., Cason J. A., Fairchild B. D., Hinkle N. C.*: Transmission of Salmonella to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae). Poult. Sci. 2009, 88, 44-48.

34. *Rueda L. M., Axtell R. C.*: Temperature-dependent development and survival of the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus. Med. Vet. Entomol. 1996, 10, 80-86.
35. *Rumbos C. I., Karapanagiotidis I. T., Mente E., Athanassiou C. G.*: The lesser mealworm Alphitobius diaperinus: a noxious pest or a promising nutrient source? Rev. Aquacult. 2018, 10, 1-20.
36. *Safrit R. D., Axtell R. C.*: Evaluations of sampling methods for darkling beetles (Alphitobius diaperinus) in the litter of turkey and broiler houses. Poult. Sci. 1984, 63, 2368-2375.
37. *Salin C., Vernon P., Vannier G.*: Effects of temperature and humidity on transpiration in adults of the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Insect Physiol. 1999, 45, 907-914.
38. *Savage S.*: Reducing darkling beetles. Poult. Dig. 1992, 51, 34-36.
39. *Schawaller W., Grimm R.*: The genus Alphitobius Stephens (Coleoptera, Tenebrionidae, Alphitobiini) in Africa and adjacent islands. Zoo. Keys 2014, 415, 169-190.
40. *Singh N.*: Chemical ecology, population dynamics and insecticide susceptibility of lesser mealworm Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Doct. diss., University of Arkansas, Fayetteville 2011.
41. *Singh N., Johnson D. T.*: Attractiveness of an aggregation pheromone lure and chicken droppings to adults and larvae of Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Econ. Entomol. 2012, 105, 2196-2206.
42. *Suzuki M., Fujimoto W., Goto M., Morimatsu M., Syuto B., Iwanaga T.*: Cellular expression of gut chitinase mRNA in the gastrointestinal tract of mice and chickens. J. Histochem. Cytochem. 2002, 50, 1081-1089.
43. *Szczepanik M., Gliszczyńska A., Hnatejko M., Zawitowska B.*: Effects of halolactones with strong feeding-deterrent activity on the growth and development of larvae of the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae). Appl. Entomol. Zool. 2016, 51, 393-401.
44. *Szczepanik M., Walczak M., Zawitowska B., Michalska-Sionkowska M., Szumny A., Wawrzenczyk C., Swiontek-Brzezinska M.*: Chemical composition, antimicromicrobial activity and insecticidal activity against the lesser mealworm Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) of Origanum vulgare L. ssp. hirtum (Link) and Artemisia dracunculus L. essential oils. J. Sci. Food Agric. 2018, 98, 767-774.
45. *Tomberlin J. K., Richman D., Myers H. M.*: Susceptibility of Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae) from broiler facilities in Texas to four insecticides. J. Econ. Entomol. 2008, 101, 480-483.
46. *Voris J. C., Meyer J. A., Pfost R., Woodbury R.*: Temperature affects lesser mealworm populations in turkey brooder houses. Calif. Agric. 1994, 48, 18-21.
47. *Weaver J. E.*: The Lesser Mealworm, Alphitobius diaperinus: field trials for control in a broiler house with insect growth regulators and pyrethroids. J. Agric. Entomol. 1996, 13, 93-97.
48. *Wolf J., Potrich M., Lozano E. R., Gouvea A., Pegorini C. S.*: Combined physical and chemical methods to control lesser mealworm beetles under laboratory conditions. Poult. Sci. 2015, 94, 1145-1149.
49. *Yeasmin A. M., Waliullah T. M., Rahman A. S. M.*: Synergistic effects of chlorpyrifos with piperonyl butoxide (pbo) against the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Asian Pac. J. Reprod. 2014, 3, 305-310.

Adres autora: mgr inż. Sara Dzik, Oczapowskiego 5/109, 10-719 Olsztyn – Kortowo; e-mail: sara.dzik@uwm.edu.pl

Załącznik 1b – oświadczenie współautorów

Olsztyn, dnia 15.06.2022 r.

Autorzy:

SARA DZIK
TOMASZ MITUNIEWICZ

OŚWIADCZENIE AUTORÓW

Informujemy, że udział poszczególnych autorów w powstaniu publikacji pt. **"Characteristics of lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)"** opublikowanej w czasopiśmie: **Medycyna Weterynaryjna** (2020, 76, 145-149) przedstawiono w tabeli poniżej.

Współautor (Imię i Nazwisko)	% udział w pracy
TOMASZ MITUNIEWICZ	20
SARA DZIK	80

Z poważaniem

Podpisy autorów:
1. ..... Tomasz Mituniewicz .....
2. ..... Dzik Sara .....

Załącznik 2a – artykuł 2 https://doi.org/10.3390/ani10091461

animals

MDPI

Article

Effectiveness of Biocidal Paint Containing Permethrin, Ultramarine and Violet 23 Against *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in Laboratories and Poultry Houses

Sara Dzik * and Tomasz Mituniewicz

Department of Animal and Environmental Hygiene, Faculty of Animal Bioengineering, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, 5 Oczapowski Street, 10-719 Olsztyn, Poland; t.mituniewicz@uwm.edu.pl

* Correspondence: sara.dzik@uwm.edu.pl; Tel.: +48-895-233-213

Received: 26 June 2020; Accepted: 17 August 2020; Published: 20 August 2020

check for updates

Simple Summary: *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) is an insect pest commonly found in poultry houses. High air temperature that accompanies chicken rearing, high relative air humidity and deposited chicken excreta are the factors that create favorable conditions for the development of *A. diaperinus* on poultry farms throughout the year. *A. diaperinus* is a vector for pathogenic bacteria (including *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*), fungi (*Aspergillus* spp., *Candida* spp.), protozoa (*Eimeria* spp.), poultry parasites and viruses (causing Marek's disease, Gumboro disease, Newcastle disease, avian influenza, and leukemia in poultry). At the same time, the insect's resistance to commonly used insecticides is observed. Therefore, it is crucial to find an effective solution to eliminate the insect. In view of the above, an attempt to reduce the population of *A. diaperinus* on poultry houses is the justification for this research. In the research we used biocidal paint containing permethrin and a mixture of ultramarine and violet 23 to control the number of *A. diaperinus* (larvae and adults) in laboratories and poultry houses.

Abstract: Reducing *Alphitobius diaperinus* in poultry production is a difficult task. However, attempts should be made to control the insect pest, as it poses a serious threat to the life and health of the chickens, as well as the workers on a farm. Our research was conducted in two stages to assess the effectiveness of the biocidal paint against *A. diaperinus*, containing active substances such as permethrin and a mixture of ultramarine and violet 23. In the first stage, under laboratory conditions, after 22 days, 100% mortality of *A. diaperinus* larvae and adults was achieved. This allowed us to assume that the biocidal paint may also be effective in poultry houses. In the poultry house where biocidal paint was applied, the number of insects decreased continuously alongside the sampling dates. In both research stages, the biocidal paint proved more effective against *A. diaperinus* than traditional limewash, and also the time to effective interaction of the paint was noted. Additionally, it was observed that the larvae were more susceptible to the active substances than adults. The research was practical, however, further analyses are necessary to fully control *A. diaperinus*, especially in poultry houses.

Keywords: lesser mealworm; insect pest; poultry; broiler houses; insecticide; repellent; limewash

1. Introduction

In scientific research, an increased interest in *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) was noticeable at the end of the 20th century [1–6]. This resulted from the growing

number of poultry farms which emerged as an answer to an increased demand for poultry meat on the food market. *A. diaperinus* (commonly called the lesser mealworm, the darkling beetle or litter beetle) is one of the factors that generates significant losses to farmers in present day [7–10]. The insect is mostly found in poultry houses [7,11–13], especially when the litter is slightly moist [14]. The insects cause a lot of damage by tunneling in the crevices in floors and walls, thus destructing insulation [8,11]. According to Singh [15], energy costs in beetle damaged broiler houses are reported to be 67% higher than in houses without beetle damage. The damage mainly occurs when the larvae are seeking places to pupate. The problem of over-population of *A. diaperinus* is not limited to Central Europe, but has spread other regions of the world [16–21].

Additionally, the birds that consume the feed that contains the insects [22] may suffer from so-called 'nutritional stress', since birds in general have a limited chitinolytic activity in the digestive tract (due to the deficiency of the enzyme responsible for digesting chitin which covers the insects' body) [23–25]. As reported by Khempka et al. [26], the digestibility of chitin in broiler chickens is at the level of 18–24%, which may lead to an increased secretion of digestive juices, increased appetite, a decrease in the pH of the digestive tract and intestinal obstruction [15].

It has been experimentally proved that *A. diaperinus* is also a vector for many serious diseases of both poultry and humans [8–10]. The insects become infected by feeding on bird feces and dead chickens [7], and may remain infectious for a long period of time. The poultry become infected with pathogens while consuming the infected larvae or adult insects. As reported by Hess et al. [8], Yeasmin et al. [10], Singh and Johnson [27], and Crippen et al. [28], *A. diaperinus* is a carrier of the dangerous pathogen of *Salmonella*, *Campylobacter* spp. and *Escherichia coli* [9,29]. Additionally, it is a vector for a virus which causes Marek's disease and avian leukosis [9].

Extensive laboratory research is being conducted in order to find solutions to effectively reduce *A. diaperinus* number. The most significant studies investigate the influence of different groups of insecticides and bioactive compounds on the insect [30]. To achieve this, it is crucial to analyze the insect's behavior, and not only in laboratories but also in poultry houses [11]. A tendency of *A. diaperinus* to increase its resistance to the applied insecticides has been observed [16]. The resistance of *A. diaperinus* against the most common insecticides (cypermethrin, dichlorophen, triflumuron) was tested in poultry houses in Brazil. The highest susceptibility of the insects to cypermethrin and dichlorophen was observed in these poultry houses where the compounds had not been used for two years prior to the research. However, the application of cypermethrin at each washing and the disinfection of the poultry houses resulted in high resistance of *A. diaperinus* to this pyrethroid. Furthermore, it has been suggested that there exists cross-resistance between cypermethrin and dichlorophen, so it is crucial to use different methods to control *A. diaperinus* (including alternatives to chemicals) in order to reduce the likelihood of the increase in the insect's resistance to insecticides [16].

Therefore, it is important to find a universal and effective solution to control *A. diaperinus* [27]. Paints with insecticidal properties are known, but until now they have not been used in poultry buildings against *A. diaperinus*. A new technique is biocidal paint (Kleib Ltd., Brzesc Kujawski, Poland) containing chemical and optical repellent. The paint contains active substances: permethrin, ultramarine and violet 23. Permethrin is a synthetic pyrethroid insecticide, commonly used against many insects (chemical repellent) [31–33]. The insecticide affects the insect's nervous system by paralyzing—muscle contraction, paralysis and then death can occur as a result. Permethrin acts as a stomach poison when eaten by insects or as a contact poison through direct contact with target pests. It is effective against eggs, larvae, pupae and adults [34]. In addition, some beetles have photoreceptors sensitive to blue or violet light [35]. By adding blue pigment (ultramarine) and violet pigment (violet 23) to the paint, it can be an effective agent in the fight against insects (optical repellent) [33]. In view of the above, an attempt to reduce the population of *A. diaperinus* in livestock buildings for poultry is the justification for this research.

The aim of this study was to assess the effectiveness of an insecticide in the form of biocidal paint on *A. diaperinus* in laboratories and poultry houses. Thereby, the effectiveness of the biocidal paint was compared with limewash—a common method used against insect pests in Poland. It has been assumed that the application of the biocidal paint will reduce the population of *A. diaperinus*, both larvae and adults. Moreover, we assumed that over time the active substances present in the paint will systematically reduce the number of insect pests (a long-term insecticide method), and that the biocidal paint will prove more effective against *A. diaperinus* than limewash.

2. Materials and Methods

In order to assess the effectiveness of the biocidal paint, the experiment was divided into two stages: in laboratories and poultry houses.

2.1. Experimental Factor in Experiments

The biocidal paint is a white, ecological, biodegradable biocidal paint for livestock buildings, with exceptionally low odor emission. The paint received a hygienic certificate issued by the National Hygiene Institute in Warsaw, Poland (No. HK/B/0571/01/2016) and a patent issued by the Polish Patent Office (No. 232978). The biocidal paint contains two insect repellents:

(i) chemical—permethrin—$C_{21}H_{20}C_{l2}O_3$—3-phenoxyphenylomethyl 3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate;
(ii) optical—a mixture of ultramarine and violet 23—$A_{l6}Na_6O_{24}S_8Si_6$—hexasodium; bis(2,4,5-trioxa-1-sila-3-aluminabicyclopentan-1-yloxy)alumanyloxy-dioxido-2,4,5-trioxa-1-sila-3-aluminabicyclopentan-1-yloxy(trioxidosilyloxy)alumanyloxysilane; 1-oxido-2,4,5-trioxa-1-sila-3-aluminabicyclopentane;tetrathietane.

2.2. Laboratory Bioassay

To evaluate the influence of the biocidal paint on *A. diaperinus*, initially laboratory tests were conducted. *A. diaperinus* (larvae and adults) were collected from a poultry farm located in Pomerania, northern Poland, where limewash was used against insect pests. The beetles were collected from drinkers and feeders [36] together with litter. Having been transported to the laboratory, the insects were kept for 7 days in plastic bags before the experiment began [21,36]. According to Wolf et al. [21], later on, beetles were kept in snap-on boxes measuring 30 cm × 20 cm × 20 cm and each box was padded with collected litter (~0.003 m^3). The boxes were plexiglass, covered with sealing foam (to reflect the conditions of the poultry houses on the farm). The insects were kept at 22 °C ± 2 °C and 60–70% relative humidity [37] and fed on standard industrial broiler chicken feed. Water was provided with a moistened sponge of 6 cm^2 [36,38]. The interiors of the boxes were painted with a brush using (i) limewash—control group (hydrated lime + water) and: (ii) biocidal paint—experimental group. Insect mortality as well as mortality difference between larvae and adults were assessed after 7, 10, 14 and 22 days. The insects were removed from the boxes with surgical tweezers, placed on a Petri dish and counted [21]. The insects were considered dead when they did not move having been touched with surgical tweezers. The experiment was repeated 3 times over time—18 boxes and two groups were used (experimental scheme—Table 1). Each box was supplemented with 50 insects (divided into 25 adults and 25 larvae), totaling 900 individuals: 450 larvae and 450 adults.

Table 1. Experimental scheme in laboratory bioassay.

Repetition	Applied Method	
	Limewash	Biocidal Paint
I	3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each)	3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each)
II	3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each)	3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each)
III	3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each)	3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each) 3 boxes (50 insects each)

2.3. Poultry Bioassay

The research was continued on a poultry farm located in Pomerania, northern Poland. The experiments covered two poultry houses. Each group comprised a poultry house with a maximum stocking density (20,500 birds, Ross 308). The chickens were reared on rye straw litter about 15 cm thick, without padding, for the period of 6 weeks (40 days). Each rearing period was followed by a cleaning period of 3 weeks (after the birds' removal). Furthermore, no organophosphates or pyrethroids had been used on the farm (in either building) for the period of five years prior to the experiment.

Different methods against *A. diaperinus* were used in the buildings. The poultry house where limewash was applied was the control (C). Limewash was applied after the completion of each chicken flock with a hydrodynamic aggregate after washing, fogging the building, the walls and floor with limewash (300 mL/m^2). In the experimental poultry house (E), biocidal paint was used (400 mL/m^2; application with a hydrodynamic aggregate). The biocidal paint was applied only once, at the beginning of the experiment. The experiment lasted over one year (423 days). In this time, three treatments were performed (Table 2).

Table 2. Dates of treatment.

Treatment	Length of Production Cycle (Arrival and Removal)	Group	
		C	E
I	22/12/16–30/01/17	15/12/16	
II	24/04/17–02/06/17	14/04/17	15/12/2016
III	02/01/18–10/02/18	23/12/17	

C: control group, E: experimental group.

Tenedrop traps for insect pests (Biomucha Company, Bonin, Poland) [39] were used to sample larvae and adults of *A. diaperinus*. The samples were collected after each change of chicken feed. The traps were distributed in the buildings on the 1st day of chicken rearing—before the arrival of the birds. The initial population of *A. diaperinus* in each treatment was considered to be at zero level. The dates of sampling are provided in Table 3. According to Salin et al. [40], in each building 15 traps were placed. The traps were located near the walls and between the feed lines. The traps were set according to Figure 1. The first sampling was performed 3 weeks after the application of the biocidal paint. The trapped insects were put into sealed plastic bags and frozen for 48 h [40,41]. Next, beetles from each trap were placed on a Petri dish and counted [40]. The results obtained in the building with limewash were taken as a baseline estimate of *A. diaperinus* population.

Table 3. Dates of sampling.

Treatment	Commercial Feed	Feeding	Date of Sampling
I	Starter	1–10 days	10th day of rearing—31/12/16
	Grower I	11–20 days	20th day of rearing—10/01/17
	Grower II	21–31 days	31st day of rearing—21/01/17
	Finisher	32–40 days	40th day of rearing—30/01/17
II	Starter	1–10 days	10th day of rearing—03/05/17
	Grower I	11–20 days	20th day of rearing—13/05/17
	Grower II	21–31 days	31st day of rearing—24/05/17
	Finisher	32–40 days	40th day of rearing—02/06/17
III	Starter	1–10 days	10th day of rearing—11/01/18
	Grower I	11–20 days	20th day of rearing—21/01/18
	Grower II	21–31 days	31st day of rearing—01/02/18
	Finisher	32–40 days	40th day of rearing—10/02/18



Figure 1. The distribution of insect traps in both buildings.

2.4. Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted with Statistica v. 13.3.0 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). Under laboratory bioassay, the groups were compared using the Student's t-test, and multiple comparisons were analyzed statistically by one-way analysis of variance with repeated-measures (ANOVA) followed by the Tukey test. Under poultry bioassay, data were not normalizable. The analyses were performed using the non-parametric Mann-Whitney U test and evaluated with Friedman analysis of variance (ANOVA) followed by Dunn's test. For all the tests, $p < 0.05$ was applied. Data distribution normality was verified with the Shapiro-Wilk test [42].

3. Results

3.1. Laboratory Bioassay

In laboratory bioassay, the effectiveness of the biocidal paint against *A. diaperinus* (larvae and adults) was tested. Furthermore, the effectiveness of the biocidal paint was compared with that of limewash. Different results were observed for the biocidal paint and limewash. The application of the biocidal paint resulted in a significantly higher number of dead larvae and adults, compared to

limewash, which proves an improved insecticidal efficacy of this treatment. At the end of the experiment, the mortality rate of *A. diaperinus* (both larvae and adults) reached 100% in the case of the biocidal paint—all the insects were dead.

Control over *A. diaperinus* larvae and adults may be obtained by applying the biocidal paint. Populations of insect pests were reduced by the biocidal paint in all trials (Table 4). Statistical differences in the mortality of the larvae between the control group and the experimental group were observed on days 7, 10, 14 and 22. However, in the case of adults it was noted on days 10, 14 and 22, and no significant differences were observed between the groups on day 7. Additionally, statistical interaction between the biocidal paint and time was noted, which was statistically significant ($p < 0.05$). No statistical interaction between limewash and time was observed, with mortality ranging from 24% to 49.3% for dead larvae and from 32% to 42.7% for dead adults. Biocidal paint presented positive interaction with time against larvae (ranging from 41.3% to 100% after 22 days of exposition). The same was observed for adults. Furthermore, the mortality of the larvae caused by biocidal paint after 7, 10 and 14 days of the experiment was higher than that of the adults. In the case of limewash, the mortality of the larvae was lower in 7 and 10 day of experiment, however, after 14 and 22 days it was higher than that of the adults.

Table 4. Mortality rates of *Alphitobius diaperinus* and mortality difference between larvae and adults (temperature and humidity: 22 °C ± 2 °C and 60–70%) in laboratories (n = 450).

Applied Method	Larval Mortality (%)				Adult Mortality (%)			
	7 d	10 d	14 d	22 d	7 d	10 d	14 d	22 d
Limewash	24.00 ^{b} (±1.18)	33.33 ^{b} (±1.38)	40.00 ^{b**} (±2.66)	49.33 ^{b**} (±3.28)	32.00 ^{a**} (±1.45)	34.67 ^{b} (±2.78)	37.33 ^{b} (±3.05)	42.67 ^{b} (±3.55)
Biocidal paint	41.33 ^{aD**} (±1.65)	58.67 ^{aC**} (±2.52)	82.67 ^{aB**} (±2.78)	100.00 ^{aA} (<0.001)	26.67 ^{aD} (±0.93)	44.00 ^{aC} (±2.31)	69.33 ^{aB} (±1.94)	100.00 ^{aA} (<0.001)
CV (%)	18.02				22.41			

± standard error of measurement (SEM); Values followed by the different lowercase letters in each column are significantly different ($p < 0.05$) according to the Student's t-test, and followed by the different uppercase letters in each line are significantly different ($p < 0.05$) according to the Tukey's multiple range test; ** Statistically significant differences ($p < 0.05$) between larvae and adults in limewash and biocidal paint in every treatment according to the Student's test; CV: coefficient of variation.

3.2. Poultry Bioassay

Biocidal paint has a positive impact on the number of *A. diaperinus*. In the group E, where biocidal paint was used, the number of insect pests decreased in each treatment from about 10,000 to 4200 (Figure 2). It was observed that at the beginning, the number of insects decreased (from treatment I to treatment II it was over 40%). However, in case of treatment II and treatment III the number of *A. diaperinus* was reduced by about 25%. The number of larvae was reduced in treatment II and treatment III in relation to the initial population from 4111 to 1420 (reduction of 66%) and 965 (reduction of 77%). In the case of adults, the reduction was from 5964 to 4249 (29%) and 3274 (45%), respectively. No statistical differences were observed between treatment II and treatment III in the cases of both larvae and adults. In the group C, where limewash was used, the number of insects in treatment I was 8662, in treatment II 14,490 (the number of insects increased by almost 70%) and in treatment III 9045 (an increase of almost 5% compared to the initial population), with no statistical differences between treatment I and treatment III in the number of larvae and adults. Additionally, the number of *A. diaperinus* was higher in treatment II in relation to the population of the beetles in treatment I and treatment III. It was most probably caused by a failure of the ventilation system that lasted for several days. The fault resulted in increased temperature and relative air humidity in the building, which may have caused more favorable living conditions for the insects. Moreover, the population of *A. diaperinus* is subject to seasonality, which translates into an increase in the number of the beetles in the summer.

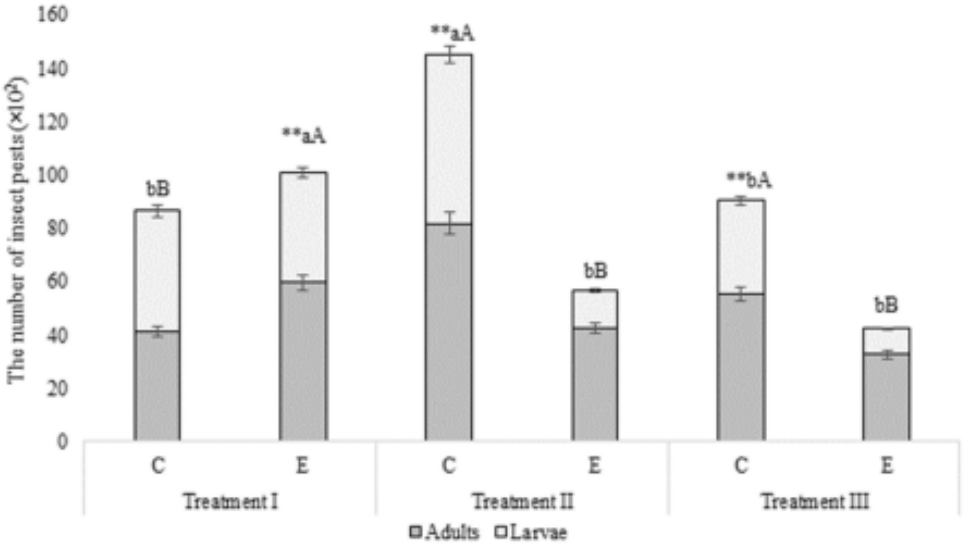


Figure 2. Number of larvae and adults in all treatments. ** Statistically significant differences ($p < 0.05$) in the number of insect between limewash and biocidal paint in every treatment; different lowercase in the number of larvae between limewash and biocidal paint in every treatment are significantly different ($p < 0.05$); different uppercase letters in the number of adults between limewash and biocidal paint in every treatment are significantly different ($p < 0.05$); Mann-Whitney U test was used; The standard error of measurement (SEM) is indicated on the bar.

The effectiveness of the biocidal paint over time was significant (Table 5). The interaction between the biocidal paint and time of treatment was statistically verified. The population of the insects per trap decreased in every treatment. Over five months after the application of the biocidal paint, the maximum number of insects per trap decreased by about 22.86%, and over one year after the application – by about 45.91%. In the case of limewash, the population of the insects increased by 98.40% and later by about 53.97% compared to the initial value. There was no interaction between limewash and time.

Table 5. Number of *Alphitobius diaperinus* per trap depends on the treatment (n = 60).

Treatment	Group	Median	Min. Per Trap	Max. Per Trap	Percentual r/b
I	C	585 ± 35.22	0.00	1940	-
	E	670 [a] ± 35.07	0.00	1028	-
II	C	725 ± 71.62	0.00	3849	98.40 b
	E	350 [b] ± 22.52	0.00	793	22.86 r
III	C	590 ± 31.46	0.00	2987	53.97 b
	E	160 [c] ± 12.48	0.00	556	45.91 r

± standard error of measurement (SEM); The lowercase letters are significantly different from each other ($p < 0.05$) according to the Dunn's test; C: control group, E: experimental group, r: reduction; b: boosting.

4. Discussion

The obtained results allowed to assume that the biocidal paint was effective in laboratories and poultry houses and could prove competitive against the commonly used limewash. Over time, since the first application of the biocidal paint, the released bioactive substances reduced the population of *A. diaperinus*. The treatment with the biocidal paint provided long-term control of the insects, lasting over one year (423 days) in poultry houses. Our results allow us to assume that the biocidal

paint has a more significant impact on the *A. diaperinus* population throughout the study period than limewash.

The choice of the right product to control *A. diaperinus* in poultry production can be problematic [36,40], mostly regarding the fact that insecticides can only be applied during the cleaning period when there are no birds in the building [20,43]. Some products are not always efficient, as they may not reach the hideouts of the insects, for instance in wall and floor crevices [44]. According to Hickmann et al. [45], currently the most commonly used chemical insecticides are pyrethroids and organophosphates, which, as research has shown, leads to the growing resistance of *A. diaperinus* to these compounds. The resistance of the insect to fenitrothion and permethrin was observed in Great Britain back in 1996. In turn, in Australia, the resistance of *A. diaperinus* against fenitrothion, deltamethrin and cyfluthrin has been experimentally confirmed, whereas in North and South America its resistance against carbaryl, methoxychlor, dichlorodiphenyltrichloroethane, cyfluthrin, permethrin, cypermethrin and chlorpyrifos has been recorded. In Brazil, a very low effectiveness of products containing cypermethrin was observed [45]. Regular identification of insecticidal susceptibility would allow manufacturers to rotate chemicals in order to reduce the insect's resistance to insecticides in a given population [36,46,47].

Some previous research results already suggested that control of *A. diaperinus* by adding hydrated lime to litter can be obtained due to lime's hygroscopic characteristics, desiccation, and alkalization [48]. Using chemicals alone to control *A. diaperinus* has proved ineffective [40] in controlling the insect.

Perhaps the combination method would prove effective: applying natural insecticidal methods with a simultaneous reduction in chemical insecticides could prevent the growing resistance of the insects to the active substances. Additionally, the research must be conducted not only under laboratory bioassay but also poultry bioassay, where the microclimate changes and the insect's behavioral patterns can be observed in its natural habitat. Furthermore, taking into account the sex of the insect may prove effective in controlling it. This is important because it would be worthwhile to examine whether the susceptibility to insecticides is different for males and females.

5. Conclusions

The analyzed biocidal paint proved more effective against *A. diaperinus* than commonly used limewash and was more effective against the larvae than adults in laboratories and poultry houses. Furthermore, the method is long-term (in that paint will systematically reduce the number of insect pests) and less labor-intensive than limewash. Additionally, the research is of a practical nature. The results may be very useful for poultry producers in controlling the *A. diaperinus* population.

Author Contributions: Conceptualization, S.D. and T.M.; methodology, S.D. and T.M.; software, S.D.; validation, S.D. and T.M.; formal analysis, S.D.; investigation, S.D.; resources, T.M.; writing—original draft preparation, S.D.; writing—review and editing, S.D.; visualization, S.D.; supervision, T.M.; project administration, S.D.; funding acquisition, T.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The APC was funded by University of Warmia and Mazury.

Acknowledgments: We would like to express our gratitude to Bogumil Torlop—Chief Technologist, and Slawomir Czarnecki—Marketing Director at Kleib Ltd., for their invaluable support in this research and help in understanding the mechanisms of controlling *A. diaperinus*. We would like to thank Anna Wolska for her technical assistance during the analyses, and Ewa Mikolajska for her linguistic assistance.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interests. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. De las Casas, E.; Hatein, P.K.; Pomeroy, B.S. Bacteria and fungi within the lesser mealworm collected from poultry brooder houses. *Environ. Entomol.* **1972**, *1*, 27–30. [CrossRef]
2. Goodwin, M.A.; Waltman, W.D. Transmission of Eimeria, viruses, and bacteria to chicks: Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens. *J. Appl. Poult. Res.* **1996**, *5*, 51–55. [CrossRef] [PubMed]

3. Guatam, R.D. Exploration of lesser mealworm for the control of storage insects together with its stages and effect on seed viability. *Agri. Situat. India* **1989**, *44*, 487–489.
4. Axtell, R.C.; Arends, J.J. Ecology and management of arthropod pests of poultry. *Annu. Rev. Entomol.* **1990**, *35*, 101–126. [CrossRef] [PubMed]
5. Savage, S. Reducing darkling beetles. *Poult. Dig.* **1992**, *51*, 34–36.
6. Salin, C.; Delettre, Y.R.; Cannavacciuolo, M.; Vernon, P. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. *Eur. J. Soil Biol.* **2000**, *36*, 107–115. [CrossRef]
7. Huber, K.; Gouilloud, L.; Zenner, L. A preliminary study of natural and experimental infection of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Histomonas meleagridis* (Protozoa: Sarcomastigophora). *Avian Pathol.* **2007**, *36*, 279–282. [CrossRef]
8. Hess, J.B.; Macklin, K.S.; McCrea, B.A. Litter Beetle (Alphitobius diaperinus Panzer) Counts in Broiler Houses Treated with a Range of Insecticides. *J. Appl. Anim. Res.* **2008**, *33*, 127–131. [CrossRef]
9. Roche, A.J.; Cox, N.A.; Richardson, L.J.; Buhr, R.J.; Cason, J.A.; Fairchild, B.D.; Hinkle, N.C. Transmission of *Salmonella* to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Poult. Sci.* **2009**, *88*, 44–48. [CrossRef]
10. Yeasmin, A.M.; Waliullah, T.M.; Rahman, S. Synergistic effects of chlorpyrifos with piperonyl butoxide (pbo) against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Asian Pac. J. Reprod.* **2014**, *3*, 305–310. [CrossRef]
11. Weaver, J.E. The Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus*: Field Trials for Control in a Broiler House with Insect Growth Regulators and Pyrethroids. *J. Agric. Urban Entomol.* **1996**, *13*, 93–97.
12. Salin, C.; Vernon, P.; Vannier, G. Effects of temperature and humidity on transpiration in adults of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Insect Physiol.* **1999**, *45*, 907–914. [CrossRef]
13. Rice, S.J.; Lambkin, T.A. A new culture method for lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. *J. Appl. Entomol.* **2009**, *133*, 67–72. [CrossRef]
14. Kaufman, P.E.; Reasor, C.; Murray, K.D.; Waldron, J.K.; Rutz, D.A. Evaluation of a barrier to inhibit lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Dermestidae* movement in high-rise, caged-layer poultry facilities. *J. Econ. Entomol.* **2005**, *98*, 1744–1749. [CrossRef]
15. Singh, N. *Chemical Ecology, Population Dynamics and Insecticide Susceptibility of Lesser Mealworm Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)*; University of Arkansas: Fayetteville, AR, USA, 2011.
16. Chernaki-Leffer, A.M.; Sosa-Gómez, D.R.; Almeida, L.M.; Lopes, I.O.N. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera, Tenebrionidae) to cypermethrin, dichlorvos and triflumuron in southern Brazil. *Rev. Bras. Entomol.* **2011**, *55*, 125–128. [CrossRef]
17. Hamm, R.L.; Kaufman, P.E.; Reasor, C.A.; Rutz, D.A.; Scott, J.G. Resistance to cyfluthrin and tetrachlorvinphos in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, collected from the eastern United States. *Pest Manag. Sci.* **2006**, *62*, 673–677. [CrossRef]
18. Kaufman, P.E.; Strong, C.; Rutz, D.A. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) adults and larvae exposed to two commercial insecticides on unpainted plywood panels. *Pest Manag. Sci.* **2008**, *64*, 108–111. [CrossRef]
19. Lambkin, T.A. Baseline responses of adult *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) to fenitrothion and susceptibility status of populations in Queensland and New South Wales, Australia. *J. Econ. Entomol.* **2005**, *98*, 938–942. [CrossRef]
20. Tomberlin, J.K.; Richman, D.; Myers, H.M. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) from broiler facilities in Texas to four insecticides. *J. Econ. Entomol.* **2008**, *101*, 480–483. [CrossRef]
21. Wolf, J.; Potrich, M.; Lozano, E.R.; Gouvea, A.; Pegorini, C.S. Combined physical and chemical methods to control lesser mealworm beetles under laboratory conditions. *Poult. Sci.* **2015**, *94*, 1145–1149. [CrossRef]
22. Despins, J.L.; Axtell, R.C. Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. *Poult. Sci.* **1995**, *74*, 331–336. [CrossRef] [PubMed]
23. Suzuki, M.; Fujimoto, W.; Goto, M.; Morimatsu, M.; Syuto, B.; Iwanaga, T. Cellular expression of gut chitinase mRNA in the gastrointestinal tract of mice and chickens. *J. Histochem. Cytochem.* **2002**, *50*, 1081–1089. [CrossRef] [PubMed]
24. Koh, K.; Iwamae, S. Chitinolytic activity of mucosal enzymes in the different parts of the digestive tract in broilers. *Jpn. Polut. Sci.* **2013**, *50*, 65–67. [CrossRef]

25. Khan, S.; Naz, S.; Sultan, A.; Alhidary, I.A.; Abdelrahman, M.M.; Khan, R.U.; Khan, N.A.; Khan, M.A.; Ahmad, S. Worm meal: A potential source of alternative protein in poultry feed. *Worlds Poult. Sci. J.* **2016**, *72*, 93–102. [CrossRef]
26. Khempaka, S.; Mochizuki, M.; Koh, K.; Karasawa, Y. Effect of chitin in shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. *J. Poult. Sci.* **2006**, *43*, 339–343. [CrossRef]
27. Singh, N.; Johnson, D.T. Attractiveness of an aggregation pheromone lure and chicken droppings to adults and larvae of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.* **2012**, *105*, 2196–2206. [CrossRef]
28. Crippen, T.L.; Sheffield, C.L.; Beier, R.C.; Nisbet, D.J. The horizontal transfer of *Salmonella* between the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and poultry manure. *Zoonoses Public Health* **2018**, *65*, 23–33. [CrossRef]
29. Szczepanik, M.; Walczak, M.; Zawitowska, B.; Michalska-Sionkowska, M.; Szumny, A.; Wawrzenczyk, C.; Swiontek-Brzezinska, M. Chemical composition, antimicromicrobial activity and insecticidal activity against the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) and *Artemisia dracunculus* L. essential oils. *J. Sci. Food Agric.* **2018**, *98*, 767–774. [CrossRef]
30. Szczepanik, M.; Gliszczyńska, A.; Hnatejko, M.; Zawitowska, B. Effects of halolactones with strong feeding-deterrent activity on the growth and development of larvae of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Appl. Entomol. Zool.* **2016**, *51*, 393–401. [CrossRef]
31. Bissinger, B.W.; Apperson, C.S.; Watson, D.W.; Arellano, C.; Sonenshine, D.E.; Roe, R.M. Novel field assays and the comparative repellency of BioUD®, DEET and permethrin against *Amblyomma americanum*. *Med. Vet. Entomol.* **2011**, *25*, 217–226. [CrossRef]
32. Fankhauser, B.B.; Dumont, P.; Hunter, J.S.; McCall, J.W.; Kaufmann, C.; Mathis, A.; Young, D.R.; Carroll, S.P.; McCall, S.; Chester, S.T.; et al. Repellent and insecticidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against three mosquito species (*Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*) on dogs. *Parasites Vectors* **2015**, *8*, 64. [CrossRef] [PubMed]
33. PubChem. Available online: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (accessed on 23 July 2020).
34. Hartley, D.; Kidd, H. *The Agrochemicals Handbook*; Royal Society of Chemistry: Nottingham, UK, 1983.
35. Sharkey, C.R.; Fujimoto, M.S.; Lord, N.P.; Shin, S.; McKenna, D.D.; Suvorov, A.; Martin, G.J.; Bybee, S.M. Overcoming the loss of blue sensitivity through opsin duplication in the largest animal group, beetles. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–10. [CrossRef] [PubMed]
36. Lyons, B.N.; Crippen, T.L.; Zheng, L.; Teel, P.D.; Swiger, S.L.; Tomberlin, J.K. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* in Texas to permethrin and β-cyfluthrin treated surfaces. *Pest Manag. Sci.* **2017**, *73*, 562–567. [CrossRef] [PubMed]
37. Hassemer, M.J.; Sant'Ana, J.; de Oliveira, M.W.M.; Borges, M.; Laumann, R.A.; Caumo, M.; Blassioli-Moraes, M.C. Chemical composition of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) abdominal glands and the influence of 1,4-benzoquinones on its behavior. *J. Econ. Entomol.* **2015**, *108*, 2107–2116. [CrossRef]
38. Bartel, R.J.; Zilkowski, B.W.; Cosse, A.A.; Steelman, C.D.; Singh, N. Male-produced aggregation pheromone of the lesser mealworm beetle, *Alphitobius diaperinus*. *J. Chem. Ecol.* **2009**, *35*, 422–434. [CrossRef]
39. Appi. Available online: http://www.ap-pi.com/catalogue,20/tenedrop,72.html (accessed on 23 July 2020).
40. Salin, C.; Delettre, Y.R.; Vernon, P. Controlling the mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler and turkey houses: Field trials with a combined insecticide treatment: Insect growth regulator and pyrethroid. *J. Econ. Entomol.* **2003**, *96*, 126–130. [CrossRef]
41. Chernaki-Leffer, A.M.; Almeida, L.M.; Sosa-Gomez, D.R.; Anjos, A.; Vogado, K.M. Populational fluctuation and spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera; Tenebrionidae) in a poultry house, Cascavel, Parana State, Brazil. *Braz. J. Biol.* **2007**, *67*, 209–213. [CrossRef]
42. TIBCO Software Inc. *TIBCO Statistica, v. 13.3.0*; TIBCO Software Inc.: Palo Alto, CA, USA, 2017.
43. Lambkin, T.A.; Rice, S.J. Baseline responses of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to cyfluthrin and detection of strong resistance in field populations in eastern Australia. *J. Econ. Entomol.* **2006**, *99*, 908–913. [CrossRef]
44. Lonc, E.; Mazurkiewicz, M.; Doroszkiewicz, W.; Kołpa, A.; Mańka, M. Microbial control of coleopteran larvae of *Alphitobius diaperinus* and *Tenebrio molitor*—Grain pests [in Polish: Mikrobiologiczne zwalczanie larw chrząszczy *Alphitobius diaperinus* i *Tenebrio molitor*—Szkodników paszy]. *Med. Weter.* **2001**, *57*, 258–262.

45. Hickmann, F.; de Morais, A.F.; Bronzatto, E.S.; Giacomelli, T.; Guedes, J.V.C.; Bernardi, O. Susceptibility of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), from broiler farms of southern Brazil to insecticides. *J. Econ. Entomol.* **2018**, *111*, 980–985. [CrossRef]
46. Prabhaker, N.; Toscano, N.C.; Henneberry, T.J. Evaluation of insecticide rotations and mixtures as resistance management strategies for *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* **1998**, *91*, 820–826. [CrossRef]
47. He, Y.; Zhang, J.; Chen, J.; Shen, J. Using synergists to detect multiple insecticide resistance in field populations of rice stem borer. *Pestic. Biochem. Physiol.* **2012**, *103*, 121–126. [CrossRef]
48. Watson, D.W.; Denning, S.S.; Zurek, L.; Stringham, S.M.; Elliott, J. Effects of lime hydrate on the growth and development of darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. *Int. J. Poult. Sci.* **2003**, *2*, 91–96. [CrossRef]

© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Załącznik 2b – oświadczenie współautorów

Olsztyn, dnia 15.06.2022 r.

Autorzy:

SARA DZIK
TOMASZ MITUNIEWICZ

OŚWIADCZENIE AUTORÓW

Informujemy, że udział poszczególnych autorów w powstaniu publikacji pt. **"Effectiveness of biocidal paint containing permethrin, ultramarine and violet 23 against *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in laboratories and poultry houses** opublikowanej w czasopiśmie: **Animals** (2020, 10) przedstawiono w tabeli poniżej.

Współautor (Imię i Nazwisko)	% udział w pracy
SARA DZIK	90
TOMASZ MITUNIEWICZ	10

Z poważaniem

Podpisy autorów:

1. .....
2. .....

Załącznik 3a – artykuł 3 https://doi.org/10.3390/ani12101264

animals

MDPI

Article

Efficacy of a Biocidal Paint in Controlling *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) and Improving the Quality of Air and Litter in Poultry Houses

Sara Dzik [1,*], Tomasz Mituniewicz [1] and Ariphzan Beisenov [2]

[1] Department of Animal and Environmental Hygiene, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, 5 Oczapowski Street, 10-719 Olsztyn, Poland; t.mituniewicz@uwm.edu.pl
[2] Department of Technology and Biological Resources, Kazakh National Agrarian Research University, 8 Abai Avenue, Almaty 050010, Kazakhstan; aripzan@mail.ru
* Correspondence: sara.dzik@uwm.edu.pl; Tel.: +48-89-523-41-90

Simple Summary: Poultry meat production and consumption continue to grow worldwide; therefore, the safety of poultry products is a priority for consumers, producers, and governing authorities. Thus, it is essential to find an effective solution to maintain proper hygiene in poultry production. One such tool is a water-based slow-release biocidal paint that contains insecticidal and antimicrobial compounds. In this study it was assumed that biocidal paint could be useful in controlling insect pests such as *Alphitobius diaperinus* and reducing microbiological contamination of air and litter and have a beneficial effect on microclimate in poultry houses. The results suggest that the tested biocidal paint could be an effective alternative to other insecticides and disinfectants. Additionally, the research is of a practical nature and may be very useful for poultry producers in controlling *A. diaperinus* populations and maintaining proper hygiene in poultry houses.

Abstract: Effective disinfection and disinsection are the keys to successful operation of modern poultry farms and the safety of poultry products. The cleaning and disinfection of poultry houses are important aspects of farm hygiene management. The correct execution of all steps of cleaning, disinfection, and disinsection procedures and the use of appropriate products are crucial for the prevention and control of zoonotic and animal diseases. In this study it was assumed that a water-based slow-release biocidal paint could be useful in controlling insect pests such as *Alphitobius diaperinus* and reducing microbiological contamination of air and litter in poultry houses and have a beneficial effect on microclimate in poultry houses. Therefore, the locations of *A. diaperinus* in the poultry houses, the microbiological contamination of air and litter, as well as the microclimatic conditions in the houses and the physicochemical parameters of the litter were evaluated. The results suggest that the tested biocidal paint could be an effective alternative to other insecticides and disinfectants. Additionally, the research is of a practical nature and may be very useful for poultry producers in controlling *A. diaperinus* populations and maintaining proper hygiene in poultry houses. Further research is needed.

Keywords: broiler houses; farm hygiene; disinfection; disinsection; lesser mealworm; insect pest; microbiological contamination; microclimate conditions; poultry litter

check for updates

Citation: Dzik, S.; Mituniewicz, T.; Beisenov, A. Efficacy of a Biocidal Paint in Controlling *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) and Improving the Quality of Air and Litter in Poultry Houses. *Animals* **2022**, *12*, 1264. https://doi.org/10.3390/ani12101264

Academic Editors: Ilda de Fátima Ferreira Tinôco and Fernanda Campos de Sousa

Received: 11 April 2022
Accepted: 12 May 2022
Published: 14 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), also known as the lesser mealworm, is an insect able to live in human-transformed environments, mainly on poultry farms [1–4], especially when chickens are kept on litter [5]. The high air temperature in poultry houses and a layer of moist litter promote beetle development throughout the year [6]. In addition, Voris et al. [7] noted the seasonality of *A. diaperinus* whose abundance increased with a rise in outdoor air temperature.

In poultry houses, *A. diaperinus* may feed on dead and diseased birds, chicken manure, and other organic materials. The insect is a vector and a reservoir of many poultry pathogens [8,9], including bacteria (e.g., *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*), fungi (*Aspergillus* spp., *Candida* spp.), protozoa (*Eimeria* spp.), and other parasites of poultry, such as *Hymenolepis nana*, as well as viruses (causing Marek's disease, Gumboro disease, Newcastle disease, avian influenza) [10]. Apart from the direct effects mentioned above, *A. diaperinus* has also been reported to cause serious damage to poultry facilities and building structures, thus generating economic losses [1,8].

Both high stocking density and intensive farming may lead to the development of pathogenic microorganisms in poultry houses, thus increasing the risk of infectious diseases [11,12]. The "from farm to fork" strategy emphasizes the importance of monitoring the safety of food products already at the primary production stage [13]. Poultry meat production and consumption continue to grow worldwide; therefore, the safety of poultry products is a priority for consumers, producers, and governing authorities [14]. Poultry meat has been identified as one of the most important pathogen carriers [14–16].

In intensive livestock production areas, air is contaminated with high concentrations of microorganisms, mostly bacteria [17–19]. Bacterial aerosols consist mainly of staphylococci and streptococci as well as numerous Gram-positive and Gram-negative bacteria [18,20,21]. The microclimate in poultry facilities is determined by the physicochemical properties of litter. Factors such as temperature, humidity, and litter pH influence the abundance and activity of microorganisms, both in the litter itself and in the air in livestock buildings [22–25]. Broiler chickens on poultry farms usually remain in contact with litter throughout the rearing period; therefore, appropriate litter quality is an important consideration [26]. Various factors, such as improper litter handling, inadequate room ventilation, as well as excessive litter moisture, can deteriorate litter quality [27]. In addition, high litter pH can significantly accelerate the decomposition of uric acid to ammonia [28].

In view of environmental and epidemiological risks, continuous monitoring and control of microorganisms and their vectors in the poultry house environment are important considerations. Therefore, effective disinfection [12] and disinsection [29] are the keys to successful operation of modern poultry farms and the safety of poultry products. The cleaning and disinfection of poultry houses are important aspects of farm hygiene management. The correct execution of all steps of cleaning, disinfection, and disinsection procedures and the use of appropriate products are crucial for the prevention and control of zoonotic and animal diseases [29,30].

It is important to find an effective solution to maintain proper hygiene in poultry production. One of such tools is a slow-release water-based biocidal paint [29] that contains insecticidal (a chemical insecticide and an optical repellent against *A. diaperinus*) and antimicrobial compounds. The chemical insecticide is permethrin, a synthetic pyrethroid that can be used against several insect species [31–34]. Permethrin acts as a stomach poison when eaten by insects or as a contact poison through direct contact with target pests. If an insect consumes or has direct contact with permethrin, it affects its nervous system. It is effective against eggs, larvae, pupae, and adults [35]. Moreover, pyrethroids are recommended for use against insects (unless resistance has been confirmed) due to their rapid destruction and high insecticidal efficacy at low doses [36,37]. The optical repellent is a mixture of ultramarine and violet 23 [34]. Light sensing is critical for insects [38]. Many beetles are vulnerable to blue and violet light (sensitive photoreceptors) [39,40]. Thus, the addition of a blue pigment (ultramarine) and a violet pigment (violet 23) to the paint may provide additional protection against *A. diaperinus*. Various paints with insecticidal properties are known, but they have not been used in poultry houses against *A. diaperinus* to date.

The antimicrobial active ingredients of the tested biocidal paint are zinc pyrithione and 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one. In contrast to other antimicrobial ingredients with silver and copper, zinc-based ones are broad-spectrum antimicrobial agents [41–43]. Zinc pyrithione inhibits fungal growth through copper influx and damage to iron-sulfur proteins; it also

depolarizes membrane electropotential in fungi [44,45]. 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one is also known as an effective antimicrobial agent [46–48].

Dzik and Mituniewicz [29] demonstrated that the analyzed biocidal paint was fully effective in laboratory conditions. When applied in poultry houses, it did not show 100% efficacy against *A. diaperinus* but was more effective than liming. In this study, the assumption was made that insect pests would be found in traps placed farther away from the walls of a house where the tested biocidal paint was applied, pointing to its repellent properties. It was also assumed that the application of the biocidal paint (antimicrobial ingredients), as compared with liming, would reduce microbial contamination of the air and litter as well as improve microclimate conditions in the house and the physicochemical parameters of the litter.

2. Materials and Methods

The experiment involved a routine hygiene procedure carried out on a production farm. Therefore, according to Polish law, the consent of the Local Ethics Committee for Experiments on Animals was not required, as no treatment, including medical treatment, invasive diagnostics, or procedures causing psychological or social discomfort to the participants were used in this study. The experiment was conducted in accordance with European Union (EU) Directive 2010/63/EU. It was established on a poultry farm (Pomerania region, northern Poland) and included two groups. Each group comprised a poultry house with a maximum stocking density (20,500 Ross 308 chickens). Chickens were reared on rye straw litter (approx. 15 cm thick) for 40 days. Each rearing period was followed by a cleaning period of 3 weeks, after the birds had been removed. The houses (each with an area of 1365 m^2—15 m × 91 m) were equipped with adjustable mechanical ventilation as well as artificial lighting with adjustable light intensity. In both poultry houses, birds had permanent access to drinking water and were fed standard commercial diets (Starter, 1–10 days; Grower I, 11–20 days; Grower II, 21–31 days; Finisher, 32–40 days, according to the manufacturer's instructions, Schaap-Pol Ltd. Polczyno, Poland).

The experimental factor was insecticide application. Lime (300 mL/m^2) was applied in one poultry house, seven days before each production cycle, with a hydrodynamic aggregate (Faska Ltd., Fabianki, Poland). In the other poultry house, the interior (walls, floor, ceiling) was painted with a biocidal paint (Kleib Ltd., Brzesc Kujawski, Poland) applied at 400 mL/m^2 with a hydrodynamic aggregate, at the beginning of the experiment (seven days before the first production cycle). The paint contains two active ingredients:

(i) chemical—permethrin (0.04% by weight),
(ii) optical—a mixture of ultramarine and violet 23 (0.004% by weight)

and two antimicrobial active ingredients:

(i) zinc pyrithione (0.12 % by weight),
(ii) 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one (0.05% by weight).

Based on the method used, the groups were denoted as L (liming) and Bp (biocidal paint).

2.1. Location of *A. diaperinus*

In order to assess the significance of spatial location, each house was divided into three sections, left (traps 1–5), middle (traps 6–10), and right (traps 11–15), in all trials. A total of 15 specialized traps [49] for trapping insect pests ("Tendrop", Biomucha Company, Poznan, Poland) were used in each group. Traps were placed on the pavement, near the longitudinal walls of the house and in the middle of the house (between the feeder and drinker lines) (Figure 1). At the time of transition to new feed (days 10, 20, 31, and 40 of rearing), insects were collected from the traps, placed in plastic drawstring bags, and frozen for 48 h. Next, the insects were transferred to Petri dishes and counted.

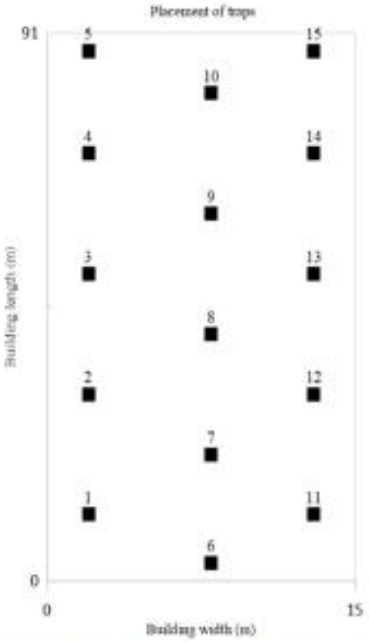


Figure 1. Setting up traps against *Alphitobius diaperinus* in poultry houses.

2.2. *Microbiological Contamination*

Air samples for microbiological analyses were collected on days 1, 21, and 40 of rearing, by the air sedimentation method with the use of Petri dishes. In all trials, air sampling was performed in both poultry houses, at five measurement sites, in duplicate. Then, the total counts of mesophilic aerobes (EN-ISO 18593:2005) and fungi (EN-ISO 21528-2:2005) were determined under laboratory conditions. The bacteria present in Petri dishes were identified via macroscopic and microscopic methods using API biochemical tests and APIWEB software, (BioMèrieux Poland Ltd., Warsaw, Poland).

In all trials, the level of microbiological contamination of the walls was evaluated using the swabbing technique. Sterile templates measuring 10 cm × 10 cm and sterile cotton swabs moistened with sterile peptone saline were used to obtain samples from flat wall surfaces. In all trials, samples were collected on days 1, 21, and 40 of rearing, in both poultry houses, at four measurement sites, in duplicate. *Salmonella* spp. (EN-ISO 6579-1:2017) and other microorganisms were identified under laboratory conditions in two stages: (1) single colonies were isolated from plate cultures, (2) the microorganisms were identified to species level using API tests and APIWEB software.

In all trials, litter samples were collected for analyses on days 1, 21, and 40 of rearing, in both poultry houses, at eight measurement sites, in duplicate. Microbiological contamination was determined both quantitatively (the total counts of mesophilic aerobes: EN-ISO 18593:2005 and the total counts of fungi: EN-ISO 21528-2:2005) and qualitatively (identification of fungi: based on their morphological features with the use of identification keys [50,51]), under an MN-800 laboratory microscope (OPTA-TECH, Warsaw, Poland).

2.3. *Microclimate Conditions and the Physicochemical Parameters of Litter*

In all trials, temperature and relative air humidity were monitored in both poultry houses via continuous registration (every 15 min) using LB-520 thermo-hygrometers with an LB-521USB interface (LAB-EL, Reguly, Poland). Air NH_3 concentration was measured with the DP-24 VET multi-gas detector (NANOSENS Ltd., Tarnowo Podgorne, Poland) at the height of birds' heads, three times a day (at 15 sites near the insect traps). The results were presented for days 1, 10, 20, 31, and 40 of rearing.

The basic physicochemical parameters of litter were also evaluated: temperature and moisture of the surface layer of straw litter (to a depth of 5 cm) were measured with the HAYMETER HMM 1625/02 thermo-hygrometer (Draminski Inc., Olsztyn, Poland), NH_3 levels were determined via the photometric method using the Ammonia PC Checkit (Lovibond, Dortmund, Germany), and litter pH was measured with an agricultural digital pH-meter, at 15 sites in each group (in each trap). The results were presented for days 1, 10, 20, 31, and 40 of rearing [23,24].

Throughout the experiment, seven production cycles were completed in the poultry houses (both groups). The experiment was repeated three times (three trials), during the first, third, and seventh production cycle, and each production cycle lasted 40 days (Table 1). There were no cases of infectious diseases on the farm during the experiment.

Table 1. Experimental design.

Trial	Number of Production Cycles over 423 Days	Insect Collection (Day of Rearing)	Date of Treatment against *A. diaperinus*	
			Liming (L)	Biocidal Paint (Bp)
I	1st	10	7 days before the 1st production cycle	7 days before the 1st production cycle
		20		
		31		
		40		
II	3rd	10	7 days before the 3rd production cycle	
		20		
		31		
		40		
III	7th	10	7 days before the 7th production cycle	
		20		
		31		
		40		

2.4. Statistical Analysis

Before statistical analyses, raw data were log-transformed. Thus, the distribution of data was approximated to normal with the Shapiro-Wilk test. In order to evaluate the effect of the tested biocidal paint on the number of insect pests found in traps placed in different sections of the house, repeated measures ANOVA (RMANOVA) was performed, where the disinfection and disinsection method used (liming or biocidal paint) and sections of the house (left, middle, right) were the fixed effects, and trials (1, 2, 3) as well as days of measurement (10, 20, 31, and 40) were the repeated measures factors. Tukey's test ($p < 0.05$) was used to assess multiple comparisons and the significance of differences between treatment means. In the next step, the significance of differences in the number of *A. diaperinus* individuals trapped in different sections was assessed separately for each poultry house using orthogonal contrast analysis at a significance level of $\alpha = 0.05$. Two contrasts (C#1 and C#2) were used to determine the differences between traps in the middle and outermost sections of the house, and between traps in the outermost sections (Table 2).

Table 2. Set of orthogonal contrasts.

Contrast	Section		
	Left	Middle	Right
C#1 middle vs. left and right	−1	2	−1
C#2 left vs. right	1	0	−1

Traps with the highest and repeated numbers of *A. diaperinus* in all trials were selected and defined as "critical points". Student's *t*-test with $p < 0.05$ was used to determine the differences in the average numbers of pests trapped in selected "critical points" between two poultry houses on a given day of measurement.

The total counts of mesophilic aerobes and fungi in the air and litter (quantitative analysis) in the poultry houses were analyzed via RMANOVA followed by the Student's *t*-test with $p < 0.05$.

Microclimate conditions and the physicochemical parameters of litter were compared between the groups using the Student's *t*-test with $p < 0.05$, and multiple comparisons of the parameters within the groups were analyzed statistically using one-way RMANOVA followed by Tukey's test ($p < 0.05$).

Statistical analyses were performed using Statistica v. 13.3.0 software [52].

3. Results

3.1. Location of *A. diaperinus*

Throughout the experiment, the number of trapped insects increased in each section in both groups (L and Bp). The orthogonal contrast analysis revealed no significant differences in the number of insect pests in traps placed in different sections in group L (C#1 $p = 0.3718$; C#2 $p = 0.8237$). In group Bp, a significant difference was found between the average number of insect pests in traps placed in the middle section and the left and right section (C#1 $p = 0.0030$) in all trials (Table 3; Figure 2).

Table 3. Section-by-section analysis of orthogonal contrasts.

Contrast	Section			*p*-Value
	Left	Middle	Right	
C#1 middle vs. left and right	−1	2	−1	
Liming				0.3718
Biocidal paint				0.0030
C#2 left vs. right	1	0	−1	
Liming				0.8237
Biocidal paint				0.6033

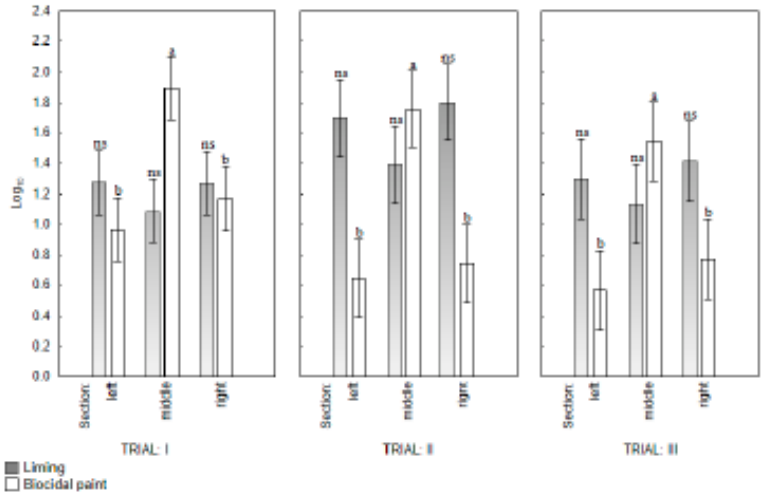


Figure 2. Location of *Alphitobius diaperinus* in different sections of poultry houses in each trial. Different lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$); ns—no significant differences between trap sections. The standard error of the mean (SEM) is indicated on the bar.

In group L, the average number of insect pests was highest in traps No. 13, 4, 3, 14, and 12, and lowest in traps No. 6 and 1, which were placed in different sections of the house, and the repeatability of measurements was not observed. On days 10 and 20 of rearing, there were no significant differences in the number of insect pests between the traps in any of the trials. On days 31 and 40 of rearing, the number of insect pests in traps varied significantly in all trials. No repeatable "critical points" were recorded in group L. In group Bp, the average number of insect pests was highest in traps No. 8, 9, and 7 placed in the middle section ("critical points") and lowest in traps No. 15, 2, 6, 1, 5, and 11. In this poultry house, the number of pests in traps was significantly different already on day 10 of rearing, and it was repeatable in each trial. The Student's *t*-test revealed that on day 10 of rearing, there was no significant difference in the number of pests located in the "critical points" between the groups ($p = 0.1562$). On the remaining days of measurement, the average number of pests was significantly higher in traps No. 7, 8, and 9 in group Bp than in group L ($p < 0.001$) (Table 4).

Table 4. Logarithmic mean of the number of pests in the "critical points".

Day of Rearing	Log Mean L	Log Mean Bp	*p*
10	0.58	0.88	0.1562
20	1.48	2.40	0.0008
31	1.62	2.73	0.0001
40	2.33	2.87	0.0004

Student's *t*-test was used to compare L (Liming) and Bp (Biocidal paint) groups; significant differences with $p < 0.05$.

The results indicate that in group Bp, most insects accumulated at the "critical points" relative to the other traps, which was not the case in group L.

3.2. Microbiological Contamination

The total counts of mesophilic aerobes and fungi in the air in groups L and Bp were compared based on of the overall mean per trial (trials I, II and III) (Table 5). As regards bacterial counts, the Student's *t*-test revealed no significant differences between the groups in trials I and II, whereas a significant difference was found in trial III ($p < 0.05$). The counts of mesophilic aerobes were lower in group Bp. Similar results were obtained for fungal counts in the air. The Student's *t*-test showed no significant differences between the groups in trials I and II, whereas a significant difference was found in trial III ($p < 0.05$). In trial II, the difference in fungal counts between the groups was at the limit of significance ($p = 0.0660$) (Table 5).

Table 5. Mean values of the total counts of mesophilic aerobes and fungi in the air [$\log_{10}$ CFU/m^3].

		Liming (L)				Biocidal Paint (Bp)				*p*-Value L vs. Bp
		Day of Rearing				Day of Rearing				
		1	21	40	[1] $\bar{x} \pm$ SEM	1	21	40	[1] $\bar{x} \pm$ SEM	
Mesophilic aerobes	Trial I	1.14	2.64	2.40	2.06 ± 0.11	2.69	2.50	1.12	2.11 ± 0.11	0.7058
	Trial II	2.85	2.21	3.17	2.74 ± 0.06	2.49	2.37	2.92	2.59 ± 0.06	0.2494
	Trial III	2.54	2.91	3.09	2.85 ± 0.08	2.34	2.61	2.80	2.58 ± 0.08	0.0462
Fungi	Trial I	0.38	1.70	1.99	1.36 ± 0.09	2.03	1.46	0.18	1.22 ± 0.09	0.3355
	Trial II	2.59	1.41	2.02	2.01 ± 0.07	2.12	1.53	1.57	1.74 ± 0.07	0.0660
	Trial III	1.40	1.94	2.20	1.85 ± 0.12	1.30	1.32	1.61	1.41 ± 0.12	0.0044

[1] $\bar{x} \pm$ SEM, mean ± standard error of the mean; the total counts of mesophilic aerobes and fungi in the air were analyzed between L and Bp groups at 1, 21, and 40 days of rearing, respectively, in all trials followed by Student's *t*-test, significant differences with $p < 0.05$.

During the entire experiment, the average counts of mesophilic aerobes and fungi in the air in group L ranged from 1.14 to 3.17 $\log_{10}$ CFU/m^3, and from 0.38 to 2.59 $\log_{10}$ CFU/m^3, respectively. In group Bp, their ranges were as follows: mesophilic aerobes—1.12–2.92 $\log_{10}$ CFU/m^3, fungi—0.18–2.12 $\log_{10}$ CFU/m^3. A comparison of mean microbial concentrations on individual measurement days revealed significant differences in bacterial and fungal counts in air ($p = 0.0001$) and litter ($p = 0.000007$). In group L, the counts of mesophilic aerobes and fungi in the air increased during the rearing period. A different trend was observed in group Bp, where the counts of mesophilic aerobes and fungi decreased in some trials (Table 5).

The total counts of mesophilic aerobes and fungi in litter in groups L and Bp were compared based on the overall mean per trial (trial I, II, and III) (Table 6). The counts of mesophilic aerobes were significantly lower in group Bp in every trial ($p < 0.05$). In trial I, no significant differences in fungal counts were found between the groups ($p = 0.2835$). However, significant differences were noted in the other trials. Fungal counts in litter were significantly lower in group Bp (Table 6).

Table 6. Mean values of the total counts of mesophilic aerobes and fungi in litter during the different rearing days in each trial [$\log_{10}$ CFU/g].

		Liming (L)				Biocidal Paint (Bp)				*p*-Value L vs. Bp
		Day of Rearing				Day of Rearing				
		1	21	40	[1] $\bar{x} \pm$ SEM	1	21	40	[1] $\bar{x} \pm$ SEM	
Mesophilic aerobes	Trial I	7.98	10.12	10.64	9.58 ± 0.18	7.84	9.17	9.96	8.99 ± 0.18	0.0121
	Trial II	7.47	9.24	10.22	8.98 ± 0.13	6.87	7.45	9.90	8.07 ± 0.13	0.0002
	Trial III	7.92	9.09	10.26	9.09 ± 0.16	7.06	7.96	9.77	8.26 ± 0.16	0.0006
Fungi	Trial I	6.21	7.91	9.56	7.89 ± 0.17	6.08	7.92	8.94	7.65 ± 0.17	0.2835
	Trial II	6.32	8.32	9.40	8.01 ± 0.18	5.19	6.77	8.19	6.72 ± 0.18	<0.0001
	Trial III	6.44	7.57	8.94	7.65 ± 0.13	5.49	6.86	8.35	6.90 ± 0.13	0.0019

[1] $\bar{x} \pm$ SEM, mean ± standard error of the mean; the total counts of mesophilic aerobes and fungi in the litter were analyzed between L and Bp groups on day 1, 21, and 40 of rearing, respectively, in all trials followed by Student's *t*-test, significant differences with $p < 0.05$.

During the entire experiment, the average counts of mesophilic aerobes and fungi in litter in group L ranged from 7.47 to 10.64 $\log_{10}$ CFU/g and from 6.21 to 9.56 $\log_{10}$ CFU/g, respectively. In group Bp, their ranges were as follows: mesophilic bacteria—6.87–9.96 $\log_{10}$ CFU/g, fungi—5.19–8.94 $\log_{10}$ CFU/g. Microbial counts in litter increased in both groups throughout rearing. Moreover, in nearly all measurements, the biocidal paint was significantly more effective than liming—the counts of mesophilic aerobes and fungal counts in litter were higher in group L (Table 6).

The results of a qualitative analysis of microorganisms in the houses are presented in Table 7 (air) and Table 8 (litter). The microflora identified in each group was quite differentiated and characterized by the presence of representatives of 15 genera/species in group L and 13 in group Bp. Similar microbial genera and species were identified in both groups during the experiment, with the predominance of *Proteus* spp., non-hemolytic *E. coli*, and *Enterobacter cloacae*. A qualitative analysis of litter revealed that fungi, *Cladosporium* spp. and *Candida krusei*, predominated in both groups. Moreover, *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium* spp. were identified in group L, whereas *Rhodotorula* and *Trichosporon* were present in group Bp. *Salmonella* spp. were not detected in any of the measurements.

Table 7. Bacterial genera/species identified in the air.

	Liming (L)	Biocidal Paint (Bp)
Trial I	Non-hemolytic *E. coli*, *Brevundimonas diminuta*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea* spp., *Proteus mirabilis* *Proteus vulgaris* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus saprophyticus*	Non-hemolytic *E. coli*, *Brevundimonas diminuta*, *Enterobacter cloacae*, *Micrococcus* spp., *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas aeruginosa*
Trial II	Non-hemolytic *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea* spp., *Proteus* spp., *Staphylococcus saprophyticus*	Non-hemolytic *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea* spp., *Proteus vulgaris* *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas luteola*,
Trial III	Non-hemolytic *E. coli*, *Enterobacter cloacae* *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea* spp., *Proteus* spp., *Staphylococcus saprophyticus*	Non-hemolytic *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea* spp *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus*

Table 8. Bacterial genera/species identified in litter.

	Liming (L)	Biocidal Paint (Bp)
Trial I	isolated *Aspergillus fumigatus*, abundant growth with a predominance of *Cladosporium* spp., and numerous *Candida krusei*	isolated *Rhodotorula*, abundant growth with a predominance of *Cladosporium*, and numerous *Candida krusei*
Trial II	isolated *Candida krusei*, abundant growth with a predominance of *Aspergillus fumigatus*, and abundant growth of *Penicillium* spp.	isolated *Trichosporon*, *Candida krusei* and abundant growth with a predominance of *Cladosporium*
Trial III	isolated *Candida krusei* and *Penicillium* spp. as well as numerous *Aspergillus fumigatus*, and abundant growth with a predominance of *Cladosporium* spp.	isolated *Rhodotorula* and *Candida krusei* as well as abundant growth with a predominance of *Cladosporium* spp.

3.3. Microclimate Conditions and the Physicochemical Parameters of Litter

3.3.1. Temperature, Relative Humidity, and NH_3 Concentration in the Air

In this study, no significant differences in air temperature or relative humidity were found between the groups across trials. In both groups, the initial mean temperature was 34 °C ± 0.45 °C, and it decreased by 2 °C ± 0.55 °C each week. As a result, at the end of every rearing phase, the mean air temperature was 22 °C ± 0.81 °C in both groups (Table 9). The mean relative humidity ranged from 57% to 70% in both groups in each trial. Additionally, significant differences in air temperature were noted between the first and last day of rearing in groups L and Bp in each trial (Table 9).

Table 9. Air microclimate parameters during the experiment.

Day of Rearing	Trial I						Trial II						Trial III					
	Litering (L)			Biocidal Paint (Bp)			Litering (L)			Biocidal Paint (Bp)			Litering (L)			Biocidal Paint (Bp)		
	Air temperature (°C)	Relative humidity (%)	NH_3 (ppm)	Air temperature (°C)	Relative humidity (%)	NH_3 (ppm)	Air temperature (°C)	Relative humidity (%)	NH_3 (ppm)	Air temperature (°C)	Relative humidity (%)	NH_3 (ppm)	Air temperature (°C)	Relative humidity (%)	NH_3 (ppm)	Air temperature (°C)	Relative humidity (%)	NH_3 (ppm)
1	34.00 ^{A} (±0.75)	67.10 (±2.56)	0.00 ^{C} (<0.001)	33.71 ^{A} (±0.68)	64.30 (±5.47)	0.00 ^{C} (<0.001)	33.95 ^{A} (±0.41)	63.00 (±5.43)	0.00 ^{C} (<0.001)	34.00 ^{A} (±0.55)	65.30 ^{B} (±6.11)	0.00 ^{B} (<0.001)	34.21 ^{A} (±0.53)	61.00 (±5.61)	0.00 ^{C} (<0.001)	34.45 ^{A} (±0.22)	58.00 (±4.58)	0.00 ^{C} (<0.001)
10	32.50 (±0.76)	60.50 ^{B} (±5.47)	1.15 ^{C} (±0.05)	32.10 (±0.31)	62.80 (±4.57)	1.20 ^{C} (±0.07)	32.71 (±0.46)	61.70 ^{B} (±2.91)	1.11 ^{C} (±0.10)	31.85 (±0.67)	62.20 (±4.45)	1.07 ^{A} (±0.06)	31.65 (±0.53)	60.60 (±2.76)	0.89 ^{C} (±0.11)	31.90 (±0.51)	57.50 ^{B} (±3.71)	0.75 ^{C} (±0.07)
20	28.85 AB (±0.45)	65.60 ^{B} (±5.01)	5.40 (±0.12)	30.55 (±0.29)	62.30 (±3.93)	2.47 ^{C} (±0.11)	28.91 (±0.11)	61.20 ^{B} (±3.10)	4.47 (±0.37)	28.85 AE (±0.41)	64.80 (±7.66)	3.40 (±0.15)	30.50 B (±0.74)	61.20 (±3.49)	5.25 ^{B} (±0.87)	30.00 B (±0.69)	65.50 (±4.92)	4.73 (±0.65)
31	25.50 (±1.12)	64.00 (±4.65)	15.10 ^{B} (±1.28)	25.40 ^{B} (±0.41)	64.30 (±4.76)	8.20 ^{B} (±1.43)	25.80 (±0.94)	67.00 (±6.21)	9.00 ^{B} (±1.15)	27.41 (±0.60)	68.00 A (±8.91)	7.80 AE (±1.01)	25.10 (±0.28)	62.80 (±5.28)	9.13 ^{B} (±1.45)	27.95 (±0.46)	66.10 A (±6.05)	8.73 ^{B} (±1.01)
40	26.11 ^{B} (±0.95)	68.00 ^{A} (±6.54)	19.20 aA (±5.34)	26.00 ^{C} (±0.33)	67.00 (±8.03)	14.87 bA (±4.48)	26.00 ^{B} (±0.27)	68.50 ^{A} (±4.98)	18.73 aA (±2.87)	26.00 B (±0.32)	68.30 A (±6.73)	11.60 bA (±2.89)	26.00 C (±0.46)	65.00 (±4.32)	15.53 aA (±4.68)	26.34 C (±0.48)	64.70 A (±5.40)	12.67 bA (±3.30)

± standard error of means (SEM); values followed by different lowercase letters in each line in each trial (differences in each parameter between groups L and Bp) are significantly different ($p < 0.05$) in the Student's *t*-test, and values followed by different uppercase letters in each column are significantly different ($p < 0.05$) in Tukey's multiple range test.

On the first day of rearing, NH_3 concentration was 0 ppm in both groups in each trial, and then it increased steadily. Significant differences in NH_3 concentration in the air were noted in groups L and Bp on different days of rearing. In trial I, at the end of rearing, the mean NH_3 concentration reached 19.20 ppm in group L and 14.87 ppm in group Bp; the respective values were 18.73 ppm and 11.60 ppm in trial II, 15.53 ppm and 12.67 ppm in trial III. On the last day of rearing, significant differences in NH_3 concentration were found between the groups in every trial. The mean values were significantly higher in group L (Table 9).

3.3.2. Litter Temperature and Moisture Content, NH_3 Concentration and pH

In trial I, litter temperature ranged from 16.87 °C to 23.02 °C and litter moisture content ranged from 9.47% to 38.20% in group L, whereas the respective values in group Bp were 19.65–26.68 °C and 9.07–41.60%. In trial II, the values of litter temperature and moisture were 16.65–23.68 °C and 9.20–36.60%, respectively, in group L and 17.00–23.25 °C and 9.13–40.00%, respectively, in group Bp. In trial III, the values of litter temperature and moisture reached 15.45–22.85 °C and 8.73–37.20%, respectively, in group L and 17.00–22.85 °C and 8.40–39.20%, respectively, in group Bp (Table 10). Significant differences in mean litter temperature were found between the groups in trial I. No significant differences in litter moisture content were noted between the groups across trials (Table 10). However, the values of this parameter increased during rearing.

Significant differences in NH_3 concentration were observed between groups. Significantly higher values were recorded in group L, in the range of 0.27–32.60 ppm in trial I, 0.07–30.87 ppm in trial II, and 1.15–28.80 ppm in trial III. In contrast, in group Bp, the following ranges of values were noted: 0.07–23.47 ppm, 0.00–23.50 ppm, and 0.00–23.20 ppm in trials I, II, and III, respectively. In addition, the concentration of NH_3 in litter increased throughout the rearing period in both groups, and such a trend was noted in all trials (Table 10).

No significant differences in litter pH were found between groups L and Bp in any of the trials or days of rearing (Table 10). In both groups, the pH values did not exceed 5–7 throughout the experiment.

Table 10. Litter parameters during the experiment.

Days of rearing	Trial I								Trial II								Trial III							
	Lining (L)				Biocidal Paint (Bp)				Lining (L)				Biocidal Paint (Bp)				Lining (L)				Biocidal Paint (Bp)			
	Litter temperature (°C)	Litter moisture (%)	NH_3 (ppm)	p H	Litter temperature (°C)	Litter moisture (%)	NH_3 (ppm)	pH	Litter temperature (°C)	Litter moisture (%)	N H_3 (ppm)	p H	Litter temperature (°C)	Litter moisture (%)	N H_3 (ppm)	pH	Litter temperature (°C)	Litter moisture (%)	NH_3 (ppm)	pH	Litter temperature (°C)	Litter moisture (%)	N H_3 (ppm)	p H
1	16.83^{bB} (± 5.68)	9.47^{D} (±2.51)	0.27^{C} (±0.02)	5.9^{c} (± 0.95)	19.65^{aB} (±6.16)	9.07^{C} (±1.77)	0.07^{D} (± 0.01)	5.40 (±4.22)	16.65^{C} (±3.79)	9.21^{B} (±2.65)	0.07^{C} (± 0.02)	5.71 (±6.33)	17.00^{B} (±7.32)	9.13^{C} (± 2.30)	0.06^{B} (±0.008)	5.51 (±6.15)	15.45 (±4.22)	8.25^{C} (±4.39)	1.15^{C} (±0.36)	5.55 (±8.71)	17.00^{B} (± 5.00)	8.40^{C} (±2.51)	0.09^{C} (±0.001)	5.34 (± 6.38)
10	18.25^{b} (± 5.85)	8.67 CD (±2.38)	2.49^{b} (±0.15)	5.28 (± 0.46)	21.56^{a} (±4.67)	18.24 CB (±2.99)	0.60^{BD} (± 0.66)	5.39 (±0.26)	17.63 (±5.60)	15.13 (±5.27)	1.48 (± 0.47)	5.38 (±0.43)	19.28 (±6.29)	14.88 (± 4.07)	0.53^{b} (± 0.18)	5.49 (±0.27)	15.76^{b} (±5.91)	17.13^{b} (±3.91)	2.20^{C} (±0.23)	5.61 (±0.29)	18.15^{a} (± 4.45)	16.87 (±4.25)	0.60^{C} (±0.15)	5.47 (± 0.29)
20	20.05 bAB (± 4.01)	21.51^{C} (±3.41)	7.47^{a} (±1.02)	5.24 (± 0.25)	23.21^{a} (±3.80)	21.15 (±5.01)	3.49^{bC} (± 1.01)	5.36 (±0.17)	17.99^{b} (±4.37)	21.88 (±4.76)	4.8^{c} (± 0.66)	5.61 (±0.26)	28.81^{a} (±6.88)	20.05^{b} (± 5.31)	4.3^{c} (±1.08)	5.65 (±0.71)	16.22^{b} (±5.63)	21.99 AB (±5.08)	7.00^{BC} (±3.78)	5.54 (±0.46)	18.90^{a} (± 6.99)	20.37^{B} (±4.98)	4.37 (±1.95)	5.78 (± 0.39)
31	21.35^{b} (± 2.11)	28.98^{B} (±3.79)	20.75^{aB} (±4.96)	4.16 (± 1.38)	24.67^{a} (±5.72)	31.87^{B} (±5.93)	15.98^{bB} (± 2.63)	6.07 (±4.73)	18.95^{B} (±6.11)	27.38 AB (±7.02)	17.80^{aB} (± 4.90)	5.66 (±0.58)	29.75 (±6.89)	30.08 AB (± 6.09)	11.03 BA B (±4.28)	5.91 (±0.54)	18.95 (±7.28)	28.54 (±5.33)	18.40^{aB} (±5.29)	5.89 (±0.55)	20.05^{A} (± 7.07)	26.30^{B} (±5.03)	10.06^{bB} (±4.62)	5.66 (± 0.76)
40	22.05 BA (± 1.39)	38.20 BA (±6.24)	32.60 AA (±7.33)	4.08 (± 0.47)	26.68 aA (±2.85)	41.60 aA (±7.81)	23.47 BA (±5.86)	6.21 (±4.99)	20.68 ^{A} (±5.15)	36.60 BA (±6.81)	30.87 aA (± 5.15)	6.01 (±0.63)	23.25^{A} (±5.95)	40.80 aA (± 7.15)	28.50 BA (±4.61)	5.97 (±0.59)	22.95 (± 9.73)	37.20^{A} (±6.32)	28.80 aA (±6.59)	6.03 (±0.42)	22.85^{A} (± 6.25)	39.20^{A} (±6.65)	23.20 BA (±6.93)	6.12 (± 0.82)

± standard error of means (SEM); values followed by different lowercase letters in each line in each trial (differences in each parameter between groups L and Bp) are significantly different ($p < 0.05$) in the Student's *t*-test, and values followed by different uppercase letters in each column are significantly different ($p < 0.05$) according in Tukey's multiple range test.

4. Discussion

4.1. Location of A. diaperinus

Slow-release water-based insecticidal paints are becoming increasingly popular [53,54]. The application of insecticides inside houses can be an effective way of reducing insect pest populations by repelling, killing, or controlling infestations [55,56]. Many studies have investigated the effects of insecticidal paints on insect pests.

Amelotti et al. [57] evaluated the efficacy of an insecticidal paint based on organophosphate and pyrethroid formulations against *Triatoma infestans*. The researchers found that the pyrethroid and organophosphate formulations produced 84% and 98% mortality, respectively, after 12 months of application on different surfaces. Another study demonstrated that an insecticidal paint based on organophosphorus compounds was effective against mosquitos under both laboratory and field conditions. Mortality rates were 93–100% after 12 months of application in the laboratory [58]. However, the paint's efficacy dropped to 60–80% after 12 months of application under field conditions [37]. Recent research has shown that an insecticidal paint formulation (active ingredient: deltamethrin, a synthetic pyrethroid) provided 18-month residual efficacy; 94% knockdown and 90% mortality of *Aedes aegypti* (a dengue vector) were achieved [54].

However, the effect of an insecticidal paint on *A. diaperinus* has not been evaluated to date. Dzik and Mituniewicz [29] reported that a biocidal paint was highly effective against the larvae and adults of *A. diaperinus* under laboratory conditions. However, its efficacy was considerably lower in production conditions—not all insect pests were killed. Nevertheless, the analyzed biocidal paint was more effective than the commonly used lime.

The present study was designed to determine whether the use of a biocidal paint as an insecticide and liming affect the location of *A. diaperinus* in traps in poultry houses. It was found that in group Bp, insect pests were located in the middle section of the house, especially in the "critical points", i.e., the traps where the highest numbers of insects were collected (No. 7, 8, and 9). These traps were placed farthest away from the walls. This correlation was not observed in group L, which may indicate that the active ingredients of the insecticidal paint could influence insect locomotion. This observation may contribute to controlling *A. diaperinus* in poultry houses. If the places where insect pests are likely to be found in the highest numbers are known, additional pest management tools can be applied, including natural methods such as the use of essential oils. In a study by Wolf et al. [59], combined methods were most effective in controlling *A. diaperinus* populations. Therefore, the current study may provide a new path for research and contribute to reducing the use of chemicals in animal husbandry.

4.2. Microbiological Contamination

Microbiological contamination in poultry houses is higher than in other livestock buildings [60]. In order to assess the level of microbial contamination, the results of the present study were compared with the findings of other authors. It was found that the mean concentration of microbial contaminants in the air was lower than that reported by other researchers in both summer or winter seasons. In the present study, the average counts of mesophilic aerobes did not exceed 3.17 and 2.92 $\log_{10}$ CFU/m^3, and average fungal counts did not exceed 2.59 and 2.12 $\log_{10}$ CFU/m^3 in groups L and Bp, respectively. In the experiment performed by Mituniewicz et al. [23], different litter additives were used in three poultry houses. The average counts of microbial contaminants in these poultry houses ranged from 5.00 to 6.75 $\log_{10}$ CFU/m^3 (bacteria) and from 5.01 to 6.50 $\log_{10}$ CFU/m^3 (fungi) and were significantly higher than those obtained in this study. In the work of Wójcik et al. [25], the lowest mean bacterial and fungal counts were estimated at 5.00 $\log_{10}$ CFU/m^3 and 4.55 $\log_{10}$ CFU/m^3, respectively, in the summer season. The respective values determined in the winter season were even higher. Higher values were also reported by Lawniczek-Walczyk et al. [61]. In their study, the average levels of microbial (bacterial and fungal) air contamination during the initial sampling session were similar to those noted in the current study on the last day of rearing. Higher concentrations

of airborne bacteria in poultry houses were obtained by Witkowska and Sowińska [21] and Kostadinova et al. [62]. Yang et al. [60] reported slightly lower concentrations of airborne bacteria and fungi than those determined in the cited studies, but they were still higher than in the present study (bacteria: 3.59–4.65 $\log_{10}$ CFU/m^3, fungi: 2.37–3.68 $\log_{10}$ CFU/m^3). In comparison with the findings of other authors, the values noted in the current experiment were much lower. Jiang et al. [63] tested various disinfectants, such as ozone, available chlorine, quaternary ammonium salt, glutaraldehyde, and mixed disinfectant. Bacterial aerosols were collected 72 h after disinfection of broiler houses. In the case of available chlorine, the total bacterial count in the air was higher than in the present study at the beginning of bird rearing. The values noted for the remaining disinfectants were similar to or lower than those noted in the current study. These results may suggest that both liming and the analyzed biocidal paint were effective disinfection methods that improved the microbiological air quality in the poultry houses. However, significantly better results were achieved in group Bp.

The microbiological contamination of the litter in the poultry houses was also analyzed in relation to previous research. The mean total counts of mesophilic bacteria in litter, noted by Witkowska and Sowińska [21] after broiler houses had been fogged with aqueous solutions of peppermint oil and thyme oil, were similar to those obtained in the current study in group Bp. The respective values in group L were slightly higher. At the end of week 3 of rearing, the mean bacterial load in the litter was close to or exceeded 10.00 $\log_{10}$ CFU/g. The maximum microbial load in litter reported by Kostadinova et al. [62] was lower than the values obtained in the present study. Milanov et al. [64] assessed the total counts of aerobic microorganisms (including aerobic mesophilic bacteria, yeasts, and molds) in two poultry houses, which were found to be lower than the counts of mesophilic aerobes and fungi in litter, determined in the present study. Viegas et al. [65], Witkowska et al. [66] and Ostović et al. [67] also reported lower levels of fungal contamination in litter, compared with the present findings. Thus, it appears that neither liming nor biocidal paints are as effective in reducing the microbial load in litter as disinfectants in the form of, e.g., litter additives. However, the tested biocidal paint is more effective than liming. A combined method involving the application of a biocidal paint followed by a disinfectant (e.g., natural essential oils) added to litter could be considered.

It is widely acknowledged that microbial concentrations in the air and litter increase in poultry houses during the production cycle [19,21,23,68]. The results obtained in the current study varied over wide ranges. Nevertheless, the concentration of mesophilic aerobes in the air was generally higher than the concentration of airborne fungi, which is consistent with the findings of Wójcik et al. [25], Yang et al. [60], and Lawniczek-Walczyk et al. [61].

Salmonella is one of the major pathogens in the poultry industry because it is responsible for poultry-to-human transmission and economic losses [69,70]. As an EU Member State, Poland must annually report the results of the National Control Program for *Salmonella* in broiler flocks [16] in order to reduce the prevalence of foodborne zoonotic agents and the risk they pose to public health [71]. The recommended measures include preventing the introduction of *Salmonella* onto chicken farms and its on-farm transmission [70]. Thus, it is important to maintain the highest standards of hygiene on the farm. Furthermore, effective disinfectants must be applied due to the increasing antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. The level of *Salmonella* resistance varies from country to country and depends on many factors [72]. The emergence of antimicrobial resistance in poultry production is a serious public health concern [73]. Therefore, *Salmonella* spp. should be effectively controlled in poultry houses. In the present study, the pathogen was not detected in either poultry house across trials.

Indoor contamination, including microbiological contamination, in intensive poultry farming poses a serious threat to bird and human health [60,74]. The microorganisms identified in the air and in litter are most commonly encountered in poultry facilities and have also been reported by other researchers [21,23,25,60,63,67,68,74]. Mesophilic aerobes detected in the air and fungi identified in litter were similar in both groups.

However, pathogens such as *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter faecalis* were not found in group Bp, which is good because *K. pneumoniae* is the most medically important species of *Klebsiella* spp. In humans, it can cause respiratory and urinary tract infections. In poultry, *K. pneumoniae* is one of the respiratory pathogens responsible for high mortality rates in chicks and adult birds [75]. In addition, *K. pneumoniae* isolated from poultry farms has been reported to acquire increasing levels of antimicrobial resistance [76]. In turn, *E. faecalis* is one of six species of the genus *Enterococcus* associated with poultry diseases, which affects avian species of all ages [77]. Bacteria that rapidly develop resistance to multiple antimicrobials are particularly dangerous. *Enterobacter faecalis* from broiler breeders has been implicated in its vertical transmission to their offspring [78]. In contrast, mycotoxin-producing *Penicillium* spp. and *Aspergillus fumigatus*, which cause penicilliosis and aspergillosis, respectively, were not detected in litter in group Bp in the present study, although these fungi are frequently found in litter in broiler houses [66,79–81]. Furthermore, *Alternaria* fungi, which have been identified in poultry litter by many researchers, were not detected in the analyzed facilities, either.

These results may suggest that the tested biocidal paint improves the microbiological quality of air and litter and that it is more effective than liming.

4.3. Microclimate Conditions and the Physicochemical Parameters of Litter

The counts of airborne microorganisms in livestock buildings are determined by numerous factors such as temperature, humidity, air velocity inside the building, efficiency and type of ventilation, NH_3 concentration, and litter quality [23–25]. These parameters affect the level of hygiene in poultry houses.

The microclimate conditions in the analyzed poultry houses were comparable with those reported by other researchers [18,23,25,61,66,81–84]. Indoor air temperature was highest in the first week of rearing, and then it decreased significantly in both groups in all trials; relative humidity remained at a similar level during rearing in both groups in all trials; NH_3 concentration increased steadily during the experiment. The tested biocidal paint had no significant effect on microclimate conditions.

In intensive broiler production systems, stocking density in poultry houses is very high, which makes it difficult to maintain optimal microclimate and hygiene conditions. One of the reasons is that manure and bedding remain inside poultry houses during the entire production cycle. Poultry litter is a mixture of litter material, feed, manure, feathers, and other detritus particles, which can be a source of environmental contamination, posing a health risk to broilers [23,27,62,80,82]. Poor litter quality promotes fungal growth; therefore, litter should be continuously monitored, mainly by assessing its moisture content [67,79], NH_3 concentration [23], and pH [22,27]. However, according to Arnė et al. [79], the effect of changing litter moisture and pH on fungal population densities remains controversial, although damp and dirty sites may enhance fungal growth. The physicochemical parameters of litter, noted in this study, are similar to those reported by Mituniewicz et al. [27], Ostović et al. [67], and Iwańczuk-Czernik et al. [82]. These results may indicate that both liming and the analyzed biocidal paint provide appropriate litter hygiene. However, litter moisture content and NH_3 concentration were significantly more favorable in group Bp.

In this study, the microclimate conditions in both poultry houses and the physicochemical parameters of the litter were consistent with the current EU [85] and Polish [86] legislation and with the relevant recommendations [67,87,88].

5. Conclusions

The results of this study indicate that *A. diaperinus* were found in traps placed farther away from the walls of the analyzed poultry houses due to the repellent properties of the tested biocidal paint. An analysis of the number of insect pests found in traps placed in different sections of the house and the identification of "critical points" could have important practical implications, paving the way for future research aimed at controlling insect pest populations. Furthermore, the slow-release water-based biocidal paint, tested

in this experiment, seems to be a more effective disinfection method than liming, which could contribute to reducing the incidence of infectious diseases in poultry flocks. The present and previous research findings suggest that the tested biocidal paint could be an effective alternative to other disinfectants. No significant differences were noted between the biocidal paint and liming in terms of their effects on the microclimate conditions in the analyzed poultry houses. However, the application of the biocidal paint decreased the litter moisture content and NH_3 concentration to a greater extent than liming.

Further research is needed. Perhaps a combination method would prove effective: applying natural antimicrobial and insecticidal methods with a simultaneous reduction in chemical could prevent the growing resistance of the microorganism and insects to the active substances.

Author Contributions: Conceptualization, S.D. and T.M.; methodology, T.M.; software, S.D. and T.M.; validation, S.D., T.M. and A.B.; formal analysis, S.D.; investigation, S.D.; resources, S.D., T.M. and A.B.; data curation, S.D. and A.B.; writing—original draft preparation, S.D.; writing—review and editing, S.D.; visualization, S.D.; supervision, T.M.; project administration, S.D. and A.B.; funding acquisition, S.D., T.M. and A.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Project financially supported by Minister of Education and Science under the program entitled "Regional Initiative of Excellence" for the years 2019–2022, Project No. 010/RID/2018/19, amount of funding 12.000.000 PLN. Additionally, the publication was written as a result of the author's internship in Kazakh National Agrarian Research University in Almaty, Kazakhstan, co-financed by the European Union under the European Social Fund (Operational Program Knowledge Education Development), carried out in the project Development Program at the University of Warmia and Mazury in Olsztyn (POWR.03.05. 00-00-Z310/17).

Institutional Review Board Statement: Ethical review and approval were waived for this study due to involving a routine hygiene procedure carried out on a production farm. Therefore, according to Polish law, the consent of the Local Ethics Committee for Experiments on Animals was not required, as no treatment, including medical treatment, invasive diagnostics, or procedures causing psychological or social discomfort to the participants were used in this study. The experiment was conducted in accordance with European Union (EU) Directive 2010/63/EU.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Acknowledgments: We would like to express our gratitude to Dariusz Załuski, of Agricultural Sciences, employed as professor at the University of Warmia and Mazury in Olsztyn, for his invaluable support in this research.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interests. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Huber, K.; Gouilloud, L.; Zenner, L. A preliminary study of natural and experimental infection of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Histomonas meleagridis* (Protozoa: Sarcomastigophora). *Avian Pathol.* **2007**, *36*, 279–282. [CrossRef] [PubMed]
2. Hess, J.B.; Macklin, K.S.; McCrea, B.A. Litter beetle (*Alphitobius diaperinus* Panzer) counts in broiler houses treated with a range of insecticides. *J. Appl. Anim. Res.* **2008**, *33*, 127–131. [CrossRef]
3. Roche, A.J.; Cox, N.A.; Richardson, L.J.; Buhr, R.J.; Cason, J.A.; Fairchild, B.D.; Hinkle, N.C. Transmission of *Salmonella* to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Poult. Sci.* **2009**, *88*, 44–48. [CrossRef] [PubMed]
4. Mituniewicz, T.; Dzik, S. Characteristics of lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Vet. Med. Sci. Pract.* **2020**, *76*, 145–149. [CrossRef]

5. Lambkin, T.A. Baseline responses of adult *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) to fenitrothion and susceptibility status of populations in Queensland and New South Wales, Australia. *J. Econ. Entomol.* **2005**, *98*, 938–942. [CrossRef]
6. Chernaki-Leffer, A.M.; Almeida, L.M.; Sosa-Gomez, D.R.; Anjos, A.; Vogado, K.M. Population fluctuation and spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera; Tenebrionidae) in a poultry house, Cascavel, Parana state, Brazil. *Braz. J. Biol.* **2007**, *67*, 209–213. [CrossRef]
7. Voris, J.C.; Meyer, J.A.; Pfost, R.; Woodbury, R. Temperature affects lesser mealworm populations in turkey brooder houses. *Calif. Agric.* **1994**, *48*, 18–21. [CrossRef]
8. Kaufman, P.E.; Reasor, C.; Murray, K.D.; Waldron, J.K.; Rutz, D.A. Evaluation of a barrier to inhibit lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Dermestidae* movement in high-rise, caged-layer poultry facilities. *J. Econ. Entomol.* **2005**, *98*, 1744–1749. [CrossRef]
9. Rice, S.J.; Lambkin, T.A. A new culture method for lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. *J. Appl. Entomol.* **2009**, *133*, 67–72. [CrossRef]
10. Singh, N. *Chemical Ecology, Population Dynamics and Insecticide Susceptibility of Lesser Mealworm Alphitobius Diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)*; University of Arkansas: Fayetteville, AR, USA, 2011.
11. Champan, J.S. Biocide resistant mechanisms. *Int. Biodetecterior. Biodegrad.* **2003**, *51*, 133–138. [CrossRef]
12. Nechyporenko, O.L.; Berezovskyy, A.V.; Fotina, T.I.; Petrov, R.V.; Fotin, A.I. Efficiency of complex disinfecting measures in the conditions of poultry farming. *Sci. Messenger Lviv. Natl. Univ. Vet. Med. Biotechnol.* **2018**, *92*, 165–168. [CrossRef]
13. Crump, J.A.; Griffin, P.M.; Angulo, F.J. Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness. *Clin. Infect. Dis.* **2002**, *35*, 859–865. [CrossRef] [PubMed]
14. Alali, W.Q.; Hofacre, C.L. Preharvest food safety in broiler chicken production. *Microbiol. Spectrum* **2016**, *4*, 69–86. [CrossRef] [PubMed]
15. Scallan, E.; Hoekstra, R.M.; Angulo, F.J.; Tauxe, R.V.; Widdowson, M.A.; Roy, S.L.; Jones, J.L.; Griffin, P.M. Foodborne illness acquired in the United States: Major pathogens. *Emerg. Infect. Dis.* **2011**, *17*, 15–17. [CrossRef]
16. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. *EFSA J.* **2021**, *19*, 6971. [CrossRef]
17. Lee, S.A.; Adhikari, A.; Grinshpun, S.A.; McKay, R.; Shukla, R.; Reponen, T. Personal exposure to airborne dust and microorganisms in agricultural environments. *J. Occup. Environ. Hyg.* **2006**, *3*, 118–130. [CrossRef]
18. Vučemilo, M.; Matković, K.; Vinković, B.; Jakšić, S.; Granić, K.; Mas, N. The effect of animal age on air pollutant concentration in a broiler house. *Czech J. Anim. Sci.* **2007**, *52*, 170–174. [CrossRef]
19. Bródka, K.; Kozajda, A.; Buczyńska, A.; Szadkowska-Stańczyk, I. The variability of bacteria aerosol in poultry houses depending on selected factors. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* **2012**, *25*, 281–293. [CrossRef]
20. Oppliger, A.; Charriere, N.; Droz, P.-O.; Rinsoz, T. Exposure to Bioaerosols in Poultry Houses at Different Stages of Fattening; Use of Real-time PCR for Airborne Bacterial Quantification. *Ann. Occup. Hyg.* **2008**, *52*, 405–412. [CrossRef]
21. Witkowska, D.; Sowińska, J. The effectiveness of peppermint and thyme essential oil mist in reducing bacterial contamination in broiler houses. *Poult. Sci.* **2013**, *92*, 2834–2843. [CrossRef]
22. Fries, R.; Akcan, M.; Bandick, N.; Kobe, A. Microflora of two different types of poultry litter. *Br. Poult. Sci.* **2005**, *46*, 668–672. [CrossRef] [PubMed]
23. Mituniewicz, T.; Sowińska, J.; Wójcik, A.; Iwańczuk-Czernik, K.; Witkowska, D.; Banaś, J. Effect of disinfectants on physicochemical parameters of litter, microbiological quality of poultry house air, health status and performance of broiler chickens. *Pol. J. Environ. Stud.* **2008**, *17*, 745–750.
24. Witkowska, D.; Chorąży, Ł.; Mituniewicz, T.; Makowski, W. Microbiological contamination of litter and air during rearing of broiler chickens. *Water–Environ. Rural. Areas* **2010**, *10*, 201–210. (In Polish)
25. Wójcik, A.; Chorąży, Ł.; Mituniewicz, T.; Witkowska, D.; Iwańczuk-Czernik, K.; Sowińska, J. Microbial air contamination in poultry houses in the summer and winter. *Pol. J. Environ. Stud.* **2010**, *19*, 1045–1050.
26. Lopes, M.; Roll, V.F.B.; Leite, F.L.; Dai Prá, M.A.; Xavier, E.G.; Heres, T.; Valente, B.S. Quicklime treatment and stirring of different poultry litter substrates for reducing pathogenic bacteria counts. *Poult. Sci.* **2013**, *92*, 638–644. [CrossRef]
27. Bodi, S.G.; Garcia, A.V.; García, S.V.; Orenga, C.M. Litter aeration and spread of *Salmonella* in broilers. *Poult. Sci.* **2013**, *92*, 2005–2011. [CrossRef]
28. Al Homidan, A.; Robertson, J.F.; Petchey, A.M. Review of the effect of ammonia and dust concentrations on broiler performance. *World's Poult. Sci. J.* **2003**, *59*, 340–349. [CrossRef]
29. Dzik, S.; Mituniewicz, T. Effectiveness of biocidal paint containing permethrin, ultramarine and violet 23 against *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in laboratories and poultry houses. *Animals* **2020**, *10*, 1461. [CrossRef]
30. Maertens, H.; De Reu, K.; Van Weyenberg, S.; Van Coillie, E.; Meyer, E.; Van Meirhaeghe, H. Evaluation of the hygienogram scores and related data obtained after cleaning and disinfection of poultry houses in Flanders during the period 2007 to 2014. *Poult. Sci.* **2018**, *97*, 620–627. [CrossRef]
31. Bissinger, B.W.; Apperson, C.S.; Watson, D.W.; Arellano, C.; Sonenshine, D.E.; Roe, R.M. Novel field assays and the comparative repellency of BioUD®, DEET and permethrin against *Amblyomma americanum*. *Med. Vet. Entomol.* **2011**, *25*, 217–226. [CrossRef]

32. Fankhauser, B.B.; Dumont, P.; Hunter, J.S.; McCall, J.W.; Kaufmann, C.; Mathis, A.; Young, D.R.; Carroll, S.P.; McCall, S.; Chester, S.T.; et al. Repellent and insecticidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against three mosquito species (*Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*) on dogs. *Parasites Vectors* **2015**, *8*, 64. [CrossRef] [PubMed]
33. Pham, T.B.; Hoang, T.H.C.; Pham, V.H.; Nguyen, V.C.; Nguyen, T.V.; Vu, D.C.; Pham, V.H.; Bui, H. Detection of permethrin pesticide using silver nano-dendrites SERS on optical fibre fabricated by laser-assisted photochemical method. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 12590. [CrossRef] [PubMed]
34. PubChem. Available online: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (accessed on 28 January 2022).
35. Hartley, D.; Kidd, H. *The Agrochemicals Handbook*; Royal Society of Chemistry: Nottingham, UK, 1983.
36. Zaim, M.; Aitio, A.; Nakashima, N. Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Med. Vet. Entomol.* **2000**, *14*, 1–5. [CrossRef] [PubMed]
37. Mosqueira, B.; Chabi, J.; Chandre, F.; Akogbeto, M.; Hougard, J.M.; Carnevale, P.; Mas-Coma, S. Efficacy of an insecticide paint against malaria vectors and nuisance in West Africa—Part 2: Field evaluation. *Malar. J.* **2010**, *9*, 341. [CrossRef] [PubMed]
38. Xiang, Y.; Yuan, Q.; Vogt, N.; Looger, L.L.; Jan, Y.L.; Jan, Y.N. Light-avoidance-mediating photoreceptors tile the *Drosophila* larval body wall. *Nature* **2010**, *468*, 921–926. [CrossRef]
39. Cronin, T.W.; Bok, M.J. Photoreception and vision in the ultraviolet. *J. Exp. Biol.* **2016**, *219*, 2790–2801. [CrossRef]
40. Sharkey, C.R.; Fujimoto, M.S.; Lord, N.P.; Shin, S.; McKenna, D.D.; Suvorov, A.; Martin, G.J.; Bybee, S.M. Overcoming the loss of blue sensitivity through opsin duplication in the largest animal group, beetles. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 8. [CrossRef]
41. Abd Ali, S.A.Z.; Joubert, A.; Andrès, Y. Evaluation of Antimicrobial Effect of Zinc Pyrithione against Airborne Fungi and Bacteria Growth Collected onto New and Loaded HVAC Fibrous Filters. *Processes* **2021**, *9*, 1528. [CrossRef]
42. Blanchard, C.; Brooks, L.; Ebsworth-Mojica, K.; Didione, L.; Wucher, B.; Dewhurst, S.; Krysan, D.; Dunman, P.M.; Wozniak, R.A.F. Zinc Pyrithione Improves the Antibacterial Activity of Silver Sulfadiazine Ointment. *mSphere* **2016**, *14*, 19416. [CrossRef]
43. Schwartz, J.R. Zinc Pyrithione: A topical antimicrobial with complex pharmaceutics. *J. Drugs Dermatol.* **2016**, *15*, 140–144.
44. Reeder, N.L.; Xu, J.; Youngquist, R.S.; Schwartz, J.R.; Rust, R.C.; Saunders, C.W. The antifungal mechanism of action of zinc pyrithione. *Br. J. Dermatol.* **2011**, *165*, 9–12. [CrossRef] [PubMed]
45. Monte-Serrano, M.; Fernandes-Saiz, P.; Ortí-Lucas, R.M.; Hernando, B. Effective antimicrobial coatings containing silver-based nanoclays and zinc pyrithione. *Microb. Biochem. Technol.* **2015**, *7*, 6. [CrossRef]
46. Borgna, P.; Carmellino, M.L.; Natangelo, M.; Paganil, G.; Pastoni, F.; Pregnolato, M.; Terrenil, M. Antimicrobial activity of N-hydroxyalkyl 1,2-benzisothiazol-3(2H)-ones and their thiono analogues. *Eur. J. Med. Chem.* **1996**, *31*, 919–925. [CrossRef]
47. Wang, X.X.; Zhang, T.Y.; Dao, G.H.; Hu, H.Y. Interaction between 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one and microalgae: Growth inhibition and detoxification mechanism. *Aquat. Toxicol.* **2018**, *205*, 66–75. [CrossRef]
48. Di Martino, P. Ways to improve biocides for metalworking fluid. *AIMS Microbiol.* **2020**, *7*, 13–27. [CrossRef]
49. Salin, C.; Delettre, Y.R.; Vernon, P. Controlling the mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler and turkey houses: Field trials with a combined insecticide treatment: Insect growth regulator and pyrethroid. *J. Econ. Entomol.* **2003**, *96*, 126–130. [CrossRef]
50. Litvinov, M.A. *Microscopic Soil Fungi Key*; Science Press: Leningrad, Russia, 1967.
51. Piontek, M. *Storage Fungi*; Zielona Góra University of Technology Publishing House: Zielona Góra, Poland, 1999. (In Polish)
52. TIBCO Software Inc. *TIBCO Statistica, v. 13.3.0*; TIBCO Software Inc.: Palo Alto, CA, USA, 2017.
53. Schiøler, K.L.; Alifrangis, M.; Kitron, U.; Konradsen, F. Insecticidal paints: A realistic approach to vector control? *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2016**, *10*, e0004518. [CrossRef]
54. Acharya, B.N.; Ahirwar, R.; Dhiman, S.; Yadav, K.; Pandey, P.; Sukumaran, D. Deltamethrin microencapsulation in emulsion paint binder and its long-term efficacy against dengue vector *Aedes Aegypti*. *Front. Public Health* **2021**, *9*, 686122. [CrossRef]
55. Maloney, K.K.; Ancca-Juarez, J.; Salazar, R.; Borrini-Mayori, K.; Niemierko, M.; Yukich, J.O.; Naquira, C.; Keating, J.A.; Levy, M.Z. Comparison of insecticidal paint and deltamethrin against *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) feeding and mortality in simulated natural conditions. *J. Vector Ecol.* **2013**, *38*, 6–11. [CrossRef]
56. Feat, A.; Federle, W.; Kamperman, M.; van der Gucht, J. Coatings preventing insect adhesion: An overview. *Prog. Org. Coat.* **2019**, *134*, 349–359. [CrossRef]
57. Amelotti, I.; Catala, S.; Gorla, D. Experimental evaluation of insecticidal paints against *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae), under natural climatic conditions. *Parasit Vectors* **2009**, *2*, 30–36. [CrossRef] [PubMed]
58. Mosqueira, B.; Duchon, S.; Chandre, F.; Hougard, J.M.; Carnevale, P.; Mas-Coma, S. Efficacy of an insecticide paint against insecticide-susceptible and resistant mosquitoes—Part 1: Laboratory evaluation. *Malar. J.* **2010**, *9*, 340. [CrossRef] [PubMed]
59. Wolf, J.; Potrich, M.; Lozano, E.R.; Gouvea, A.; Pegorini, C.S. Combined physical and chemical methods to control lesser mealworm beetles under laboratory conditions. *Poult. Sci.* **2015**, *94*, 1145–1149. [CrossRef] [PubMed]
60. Yang, W.; Guo, M.; Liu, G.; Yu, G.; Wang, P.; Wang, H.; Chai, T. Detection and analysis of fine particulate matter and microbial aerosol in chicken houses in Shandong Province, China. *Poult. Sci.* **2018**, *97*, 995–1005. [CrossRef]
61. Lawniczek-Walczyk, A.; Górny, R.L.; Golofit-Szymczak, M.; Niesler, A.; Wlazlo, A. Occupational exposure to airborne microorganisms, endotoxins and β-glucans in poultry houses at different stages of the production cycle. *Ann. Agric. Environ. Med.* **2013**, *20*, 259–268.
62. Kostadinova, G.; Petkov, G.; Denev, S.; Miteva, C.; Stefanova, R.; Penev, T. Microbial pollution of manure, litter, air and soil in a poultry farm. *Bulg. J. Agric. Sci.* **2014**, *20*, 66–75.

63. Jiang, L.; Li, M.; Tang, J.; Zhao, X.; Zhang, J.; Zhu, H.; Yu, X.; Li, Y.; Feng, T.; Zhang, X. Effect of different disinfectants on bacterial aerosol diversity in poultry houses. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 2113. [CrossRef]
64. Milanov, D.; Knezevic, S.D.; Vidaković, S.; Pajic, M.; Živkov-Baloš, M.; Aleksic, N. Microbial contamination of poultry litter during fattening period. *Biotehnologija Stocarstvu* **2019**, *35*, 253–265. [CrossRef]
65. Viegas, C.; Carolino, E.; Malta-Vacas, J.; Sabino, R.; Viegas, S.; Veríssimo, C. Fungal contamination of poultry litter: A public health problem. *J. Toxicol. Environ. Health* **2012**, *75*, 1341–1350. [CrossRef]
66. Witkowska, D.; Sowińska, J.; Żebrowska, J.P.; Mituniewicz, E. The Antifungal Properties of Peppermint and Thyme Essential Oils Misted in Broiler Houses. *Braz. J. Poult. Sci.* **2016**, *18*, 629–638. [CrossRef]
67. Ostovič, M.; Ravič, I.; Kovačič, M.; Kabalin, A.E.; Matkovič, K.; Sabolek, I.; Pavičič, Ž.; Menčik, S.; Tomič, D.H. Differences in fungal contamination of broiler litter between summer and winter fattening periods. *Arch. Ind. Hyg. Toxicol.* **2021**, *72*, 140–147. [CrossRef] [PubMed]
68. Chen, G.; Ma, D.; Huang, Q.; Tang, W.; Wei, M.; Li, Y.; Jiang, L.; Zhu, H.; Yu, X.; Zheng, W.; et al. Aerosol concentrations and fungal communities within broiler houses in different broiler growth stages in summer. *Front. Vet. Sci.* **2021**, *8*, 775502. [CrossRef] [PubMed]
69. Namata, H.; Welby, S.; Aerts, M.; Faes, C.; Abrahantes, J.C.; Imberechts, H.; Vermeersch, K.; Hooyberghs, J.; Méroc, E.; Mintiens, K. Identification of risk factors for the prevalence and persistence of *Salmonella* in Belgian broiler chicken flocks. *Prev. Vet. Med.* **2009**, *90*, 211–222. [CrossRef] [PubMed]
70. Firouzabadi, A.; Saadati, D.; Najimi, M.; Jajarmi, M. Prevalence and related factors of *Salmonella* spp. and *Salmonella Typhimurium* contamination among broiler farms in Kerman province, Iran. *Prev. Vet. Med.* **2020**, *175*, 104838. [CrossRef]
71. Commission Regulation (EU) No 200/2012 of 8 March 2012 concerning a Union target for the reduction of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* in flocks of broilers, as provided for in Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council. *Off. J. Eur. Union* **2012**, 31–36.
72. McDermott, P.F.; Zhao, S.; Tate, H. Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella*. *Microbiol. Spectr.* **2018**, *6*, 4. [CrossRef]
73. Nhung, N.T.; Chansiripornchai, N.; Carrique-Mas, J.J. Antimicrobial resistance in bacterial poultry pathogens: A review. *Front. Vet. Sci.* **2017**, *4*, 126. [CrossRef]
74. Skóra, J.; Matusiak, K.; Wojewódzki, P.; Nowak, A.; Sulyok, M.; Ligocka, A.; Okrasa, M.; Hermann, J.; Gutarowska, B. Evaluation of microbiological and chemical contaminants in poultry farms. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2016**, *13*, 192. [CrossRef]
75. Hamza, E.; Dorgam, S.M.; Hamza, D.A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in broiler poultry farming in Egypt. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **2016**, *7*, 8–10. [CrossRef]
76. Permatasari, D.A.; Witaningrum, A.M.; Wibisono, F.J.; Effendi, M.H. Detection and prevalence of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from poultry farms in Blitar, Indonesia. *Biodiversitas* **2020**, *21*, 4642–4647. [CrossRef]
77. Jørgensen, S.L.; Poulsen, L.L.; Thomdal, L.; Ronaghinia, A.A.; Bisgaard, M.; Christensen, H. Characterization of *Enterococcus faecalis* isolated from the cloaca of 'fancy breeds' and confined chickens. *J. Appl. Microb.* **2017**, *122*, 1149–1158. [CrossRef] [PubMed]
78. Noh, E.B.; Kim, Y.B.; Seo, K.W.; Son, S.H.; Ha, S.J.; Lee, Y.J. Antimicrobial resistance monitoring of commensal *Enterococcus faecalis* in broiler breeders. *Poult. Sci.* **2020**, *99*, 2675–2683. [CrossRef] [PubMed]
79. Arné, P.; Thierry, S.; Wang, D.; Deville, M.; Le Loc'h, G.; Desoutter, A.; Féménia, F.; Nieguitsila, A.; Huang, W.; Chermette, R.; et al. *Aspergillus fumigatus* in poultry. *Int. J. Microbiol.* **2011**, *2011*, 746356. [CrossRef] [PubMed]
80. Gerber, P.F.; Gould, N.; McGahan, E. Potential contaminants and hazards in alternative chicken bedding materials and proposed guidance levels: A review. *Poult. Sci.* **2020**, *99*, 6664–6684. [CrossRef] [PubMed]
81. Tomić, D.; Ravič, I.; Kabalin, A.E.; Kovacić, M.; Gottstein, Ž.; Ostović, M. Effects of season and house microclimate on fungal flora in air and broiler trachea. *Atmosphere* **2021**, *12*, 459. [CrossRef]
82. Iwańczuk-Czernik, K.; Witkowska, D.; Sowińska, J.; Wójcik, A.; Mituniewicz, T. The effect of a microbiological and a disinfecting preparation on the physical and chemical properties of litter and the results of broiler chicken breeding. *Pol. J. Environ. Stud.* **2007**, *22*, 395–406. [CrossRef]
83. Vučemilo, M.; Matković, K.; Vinković, B.; Macan, J.; Varnai, V.M.; Prester, L.; Granić, K.; Orct, T. Effect of microclimate on the airborne dust and endotoxin concentration in a broiler house. *Czech J. Anim. Sci.* **2008**, *53*, 83–89. [CrossRef]
84. Kic, P. Microclimatic conditions in the poultry houses. *Agron. Res.* **2016**, *14*, 82–90.
85. Council Directive 2007/43/EC of 28th June 2007 laying down minimum rules for the protection of chickens kept for meat production. *J. Laws* **2007**, *182/19*, 1–10.
86. Ministry of Agriculture and Rural Development. Regulation of the Minister for Agriculture and Rural Development of 15th February 2010 on the requirements and procedures for keeping species of farm animals for which standards of protection are laid down in European Union legislation. *J. Laws* **2010**, *56*, 344.
87. Kołacz, R.; Dobrzański, Z. *Animal Hygiene and Welfare*; Publishing House of the University of Life Sciences in Wrocław: Wrocław, Poland, 2019. (In Polish)
88. Abreu, V.M.N.; de Abreu, P.G.; Jaenisch, F.R.F.; Coldebella, A.; de Paiva, D.P. Effect of floor type (dirt or concrete) on litter quality, house environmental conditions, and performance of broilers. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* **2011**, *13*, 127–137. [CrossRef]

Załącznik 3b – oświadczenie współautorów

Olsztyn, dnia 13.06.2022 r.

Autorzy:

SARA DZIK
TOMASZ MITUNIEWICZ
ARIPHZAN BEISENOV

OŚWIADCZENIE AUTORÓW

Informujemy, że udział poszczególnych autorów w powstaniu publikacji pt. **"Efficacy of a biocidal paint in controlling *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) and improving the quality of air and litter in poultry houses"** opublikowanej w czasopiśmie: **Animals** (2022, 12) przedstawiono w tabeli poniżej.

Współautor (Imię i Nazwisko)	% udział w pracy
SARA DZIK	90
TOMASZ MITUNIEWICZ	5
ARIPHZAN BEISENOV	5

Z poważaniem

Podpisy autorów:

1. .....
2. .....
3. .....

Załącznik 4a – artykuł 4 https://doi.org/ 10.5604/01.3001.0015.9870

ANIMAL SCIENCE AND GENETICS

ANIMAL SCIENCE AND GENETICS
Published by the Polish Society of Animal Production
vol. 18 (2022), no 3, 25-41
DOI: 10.5604/01.3001.0015.9870

Research Article ***Open Access***

The effect of a biocidal paint as a disinfectant and insecticide on the growth performance and blood biochemical parameters of broiler chickens

Sara Dzik[1#], Tomasz Mituniewicz[1], Dariusz Załuski[2]

[1]University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Animal and Environmental Hygiene, Oczapowski Street 5, 10-719 Olsztyn, Poland
[2]University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Genetics, Plant Breeding and Bioresource Engineering, Plac Lodzki 3/422, 10-719 Olsztyn, Poland

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the effects of liming and a biocidal paint, used in poultry for disinfection and insect control, on the growth performance and blood biochemical parameters of broiler chickens. It was postulated that in successive trials, the active ingredients contained in the slow-release, water-based, long-lasting biocidal paint would not significantly compromise bird performance or blood biochemistry. The experiment covered three production cycles. Each production cycle was an individual trial, and thus there were three trials during the experiment. Two groups were studied in each trial, and each group consisted of one poultry house. The rearing conditions, diet, length of the rearing period, and building specifications were the same for both groups in each trial. The experiment was performed on unsexed Ross 308 chickens that were raised until 40 days of age under standard conditions. The distinguishing (experimental) factor was the method of disinfection and insect control liming (group L) was used in one poultry house and biocidal paint (group BP) in the other. Broilers from group BP (biocidal paint) were found to have better growth performance than birds from group L (liming). Application of the biocidal paint had no significant long-term negative effect on the growth performance or blood biochemical parameters of the chickens. However, changes were noted in blood cholesterol and triglyceride concentrations, depending on the disinfection insect control method. The average values of these parameters were significantly higher in group BP, but the differences were at the significance threshold. The results of the study suggest that the innovative biocidal paint can be used in poultry houses as an effective disinfectant and insecticide.

[#]Corresponding author e-mail: sara.dzik@uwm.edu.pl
Received: 08.06.2022 Received in revised form:22.08.2022
Accepted: 28.08.2022 Published online: 14.09.2022

KEY WORDS: poultry, hygiene, production condition, chicken health

INTRODUCTION

The global poultry industry has been growing dynamically for many years (Mottet and Tempio, 2017; Biesek et al., 2020). The European poultry market is expected to continue to grow (van Limbergen et al., 2020), but at a much slower rate than in the last decade. Market growth will be less dynamic, but the long-term outlook is still optimistic (EC, 2019). Poultry is popular among consumers on account of its high quality and lower price in comparison with other meat types.

The rapid growth of the poultry industry and increasing poultry consumption necessitate measures to maintain high broiler performance and promote bird health. This is not an easy task, and despite considerable research, disease control in poultry production continues to be a serious challenge (Battersby et al., 2017). The main sources of infection in poultry farming include the employees (Ridley et al., 2011), other livestock, the immediate environment (Ogden et al., 2014), pests (such as the lesser mealworm) (Mituniewicz and Dzik, 2020; Dzik and Mituniewicz, 2020), rodents (Cavia et al., 2019) and farm equipment (Battersby et al., 2016).

The production cycle, on broiler farms is particularly short, which promotes intensive rearing (Biesek et al., 2020; Wahyono and Utami, 2018). Flock health management is a critical consideration on all poultry farms, as it contributes to higher profits. Preventive procedures such as cleaning and disinfection are essential for maintaining high biosecurity standards on farms, improving performance, and keeping birds in good health (de Castro Burbarelli et al., 2017). Many infectious and non-infectious agents that compromise broiler performance and increase mortality have been identified (Jones et al., 2018). Considerable progress in disease prevention and control has been made over the years, but poultry diseases, in particular infectious diseases, are very difficult to eliminate from commercial poultry farms. For this reason, cleaning and disinfection should play a key role in daily farming practice (de Castro Burbarelli et al., 2015).

Numerous commercial products are available to help to meet high hygiene standards on poultry farms. These products should be safe for humans and birds and should not affect poultry performance or health. However, the extent to which disinfection and insect control directly affect broiler performance and health has not often been studied. Further research is needed to assess the effectiveness of commercial disinfectants and insecticides (Witkowska et al. 2019; Dzik and Mituniewicz, 2020; Dzik et al. 2022) and their impact on poultry (Witkowska et al. 2007). Therefore, this study was undertaken to determine the effects of liming and a biocidal paint, applied in poultry houses for disinfection and insect control on the growth performance and blood biochemical parameters of broiler chickens. It was postulated that in successive trials the active ingredients contained in the biocidal paint would not significantly influence bird performance or blood biochemistry. This is an important consideration, as the biocidal paint is a slow-release, water-based, long-lasting disinfectant and insecticide.

MATERIALS AND METHODS

As the experiment involved a routine hygiene procedure carried out on a production farm the consent of the Local Ethics Committee for Experiments on Animals was not required by Polish law, as no treatment, including medical treatment, invasive diagnostics, or procedures causing

psychological or social discomfort to the participants, were used in the study. The experiment was conducted in accordance with European Union (EU) Directive 2010/63/EU.

Housing

Production trials were carried out on a large commercial poultry farm (Pomerania region, Poland). The experiment involved three production cycles. Each production cycle was an individual trial, so that there were three trials during the experiment. Two groups were studied in each trial, and each group consisted of one poultry house (Table 1). The rearing conditions, diet, length of the rearing period, and building specifications were the same for both groups in each trial. The distinguishing (experimental) factor was the method of disinfection and insect control liming (group L) was used in one poultry house and biocidal paint (group BP) in the other.

Table 1

Experimental design

Experiment	Group L	Group BP
Trial I	Poultry house with limewash	Poultry house with biocidal paint
Trial II	Poultry house with limewash	Poultry house with biocidal paint
Trial III	Poultry house with limewash	Poultry house with biocidal paint

The experiment was performed on unsexed Ross 308 chickens that were raised until 40 days of age under standard conditions, on straw bedding, in buildings with controlled temperature, humidity and ventilation. Rearing in each group began with 20 500 birds. The stocking density was ~43 kg/m^2 (the poultry producer had obtained the necessary authorization to exceed the standard maximum stocking rate as specified in the Regulation of the Minister for Agriculture and Rural Development of 15 February 2010 on the requirements and procedures for keeping species of farm animals for which standards of protection are laid down in European Union legislation). The birds had free access to drinking water and were fed complete diets *ad libitum*, in accordance with poultry nutrient requirements in successive growth stages (starter: 1-10 days, grower I: 11-20 days, grower II: 21-31 days, finisher: 32-40 days). The nutritional value of the diets is presented in Table 2 (nutritional value of the feed according to the manufacturer's label).

Table 2

Nutritional value of chickens' diets

Composition (%)	Starter	Grower I	Grower II	Finisher
Crude protein	22,95	20,95	19,74	19,20
Crude fat and oil	5,72	5,87	6,71	7,47
Crude ash	5,39	4,49	4,04	3,88
Crude fibre	3,37	3,26	2,93	2,81
Lysine	1,37	1,22	1,16	1,10
Calcium	0,80	0,61	0,51	0,46
Methionine	0,59	0,53	0,51	0,49
Total phosphorus	0,53	0,43	0,35	0,34
Sodium	0,14	0,13	0,13	0,13

Bedding was removed after each production cycle, and the houses were cleaned and disinfected for three weeks. Limewash was applied in group L, and a slow-release, water-based long-lasting biocidal paint (Kleib Sp. z o.o., Brzesc Kujawski, Poland) was applied in group BP, as comprehensive protection against pathogens and insects. In group L, before each production cycle, the house was cleaned and the walls and floor were fogged with limewash using a hydrodynamic painting unit (Faska Sp. z o.o., Fabianki, Poland) at 300 mL/m^2. In group BP, the house was cleaned and the walls and floor were painted with a biocidal paint using a hydrodynamic painting unit (Faska Sp. z o.o., Fabianki, Poland) at 400 mL/m^2, in accordance with the manufacturer's instructions, only once at the beginning of the experiment (Table 3).

Table 3

Application of hygiene method

Trial	Application	
	Limewash	Biocidal paint
I	7 days before trial I	
II	7 days before trial II	7 days before trial I
III	7 days before trial III	

The biocidal paint, which is intended for use in poultry houses, contains the following active ingredients:

- insecticide active ingredients:
  - chemical – permethrin (0,04% by weight), a synthetic pyrethroid widely used against insects (Bissinger et al., 2011; Fankhauser et al., 2015; Pham et al., 2019; PubChem, 2022). Permethrin acts as a contact killer and stomach poison and affects the nervous system of insects; it is effective against eggs, larvae, pupae and adults (Hartley and Kidd 1983); it is fast-acting and highly effective even in low doses (Zaim et al., 2000; Mosqueira et al., 2010).
  - optical – a mixture of ultramarine and violet 23 (0,004% by weight) with repellent properties (Pubchem, 2022). As numerous beetle species have blue- and/or violet-sensitive photoreceptors (Cronin and Bok 2016; Sharkey et al., 2017), the addition of a blue pigment (ultramarine) and a violet pigment (violet 23) to the paint may provide additional protection against *Alphitobius diaperinus*.
- antimicrobial active ingredients:
  - zinc pyrithione (0,12% by weight) – inhibits fungal growth through copper influx and damage to iron-sulphur proteins (Reeder et al., 2011; Monte-Serrano et al., 2015); unlike other antimicrobial ingredients such as silver and copper, zinc-based ingredients are broad-spectrum antimicrobial agents (Abd Ali et al., 2021).
  - 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one (0,05% by weight) – a broad-spectrum antimicrobial agent (Wang et al., 2018; Di Martino, 2020).

The biocidal paint was certified by the National Hygiene Institute in Warsaw, Poland (No. HK/B/0571/01/2016) and patented at the Polish Patent Office (No. 232978).

Growth performance

In each trial, 250 broiler chickens selected randomly from group L and group BP were weighed at 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 40 days of age to determine their body weights (BW, kg) and body weight gain (BWG). Mortality (%) was monitored daily. The feed conversion ratio (FCR), which defines feed intake in g per g BWG, was calculated for the entire experimental period (1-40 days) and for each week of rearing (Colombino et. al., 2020). Additionally, at the end of rearing, the European Broiler Index (EBI) was calculated based on the following formula (Zaboli et al., 2017):

$$EBI = \frac{BW \times survival\ rate \times 100}{PP \times FCR},$$

where: BW – body weight (kg), survival rate – 100 - mortality (%), PP – length of the production period (days), FCR – feed conversion ratio (g feed/g body weight gain).

Blood parameters

In each trial, blood was collected post mortem from the jugular vein of 250 broilers (selected randomly from group L and group BP). Whole blood was placed in plastic test tubes containing heparin as an anticoagulant. The samples were centrifuged at 3000×g for 10 min at room temperature, and plasma was collected for further analyses. Blood samples were analysed for levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), urea, cholesterol and triglycerides in the Cobas 6000 analyser according to commercial keys (F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland). Laboratory analyses were performed in the certified Analytical Laboratory at the Municipal Hospital in Olsztyn, Poland (ISO 9001:2000 certificate No. 134B-2002-AQ-GDA-RvA).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using Statistica v. 13.3.0 software (TIBCO Software, 2017). The normality of data distribution was verified with the Shapiro–Wilk test. The mean values of the other growth performance and blood biochemical parameters of broilers in groups BP and L were compared by Student's *t*-test. A one-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test was used to evaluate whether application of the biocidal paint had a significant long-term effect on the growth performance or blood biochemical parameters of birds in successive trials. In all tests, the results were regarded as significant at $P < 0,05$.

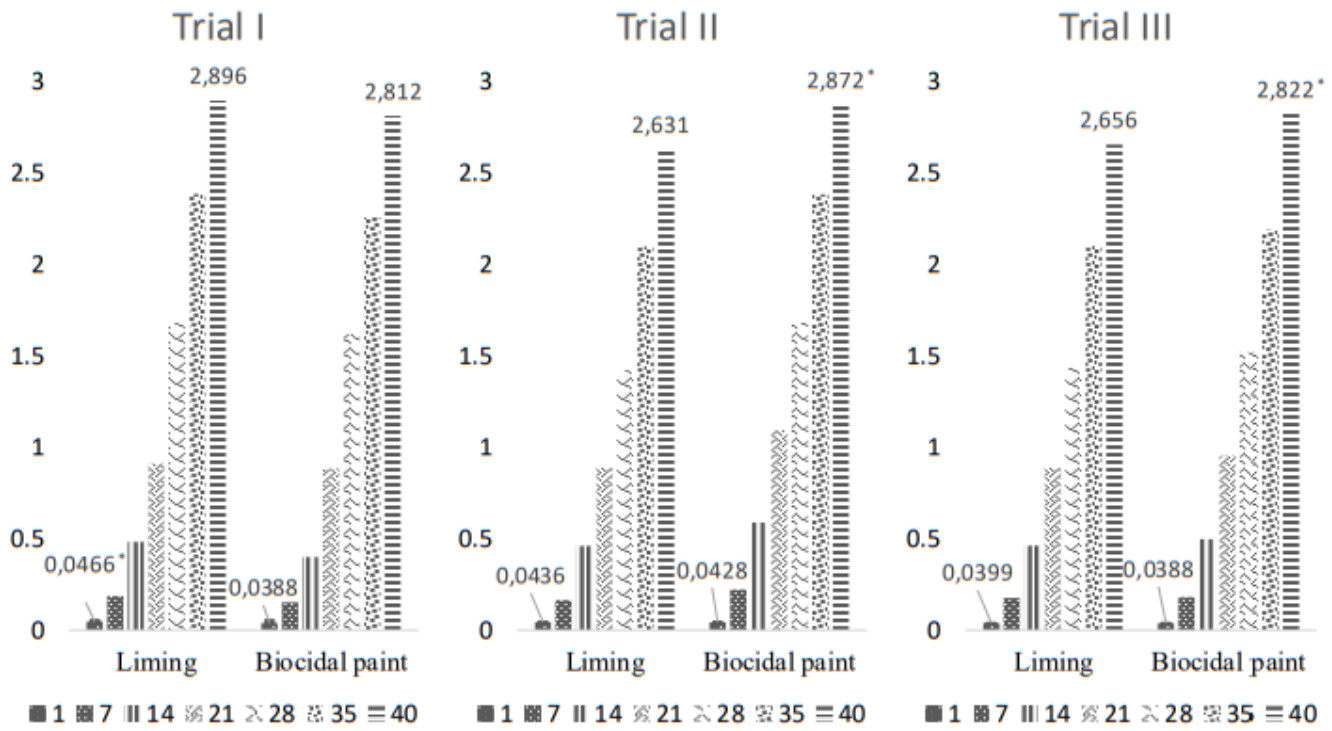
RESULTS AND DISCUSSION

In trial I, one-day-old broilers from groups L and BP differed significantly in initial BW, but no significant differences were found in their final BW. In trials II and III, no significant differences were noted in the initial BW of birds from groups L and BP, whereas their final BW was significantly different (Fig. 1). Application of the biocidal paint had no long-term significant effect on the BW of chickens – the average values of this parameter did not differ significantly across trials.

Body weight gain (BWG) was similar in both groups throughout the experiment, and the differences observed were at the significance threshold. However, significantly higher values of this parameter were noted more frequently in group BP (Fig. 2). Application of the biocidal paint had no

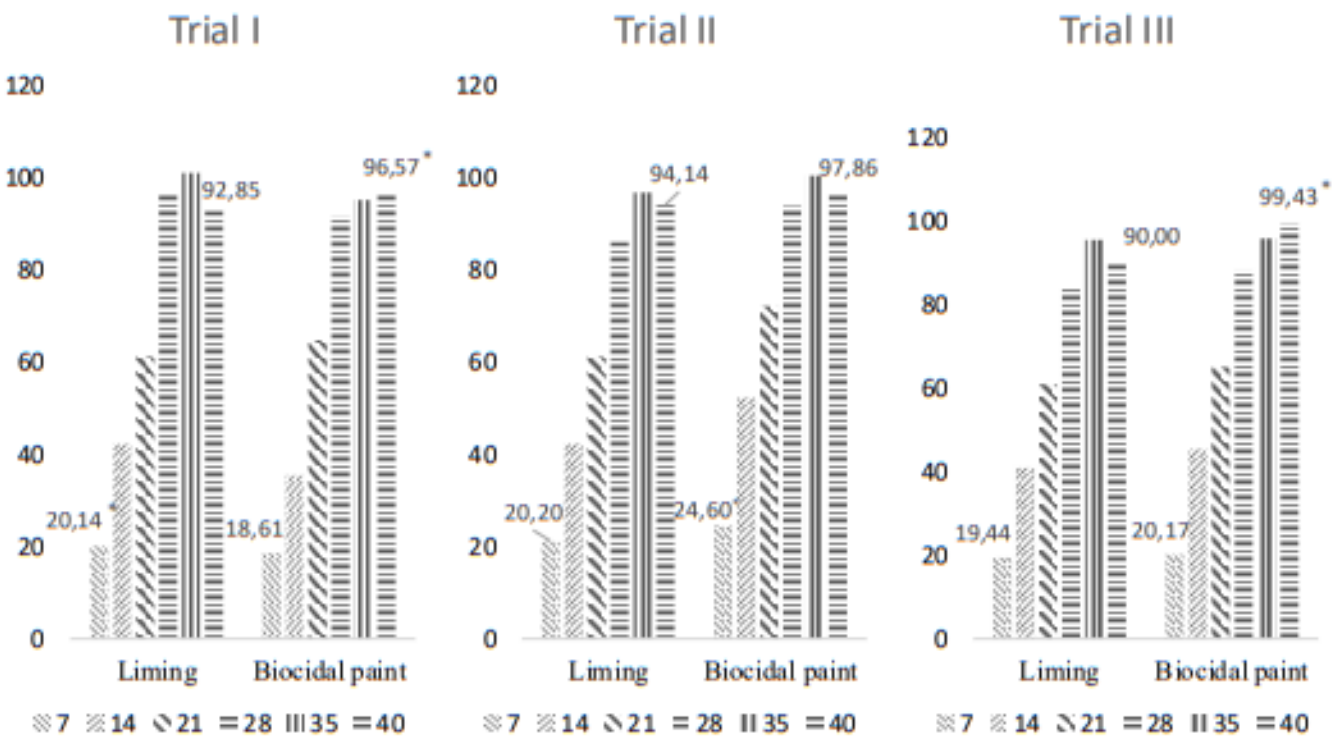
significant long-term effect on the BWG of chickens – the average values of this parameter did not differ significantly across trials.

It should be stressed that irrespective of the disinfection and insect control method used, all 40-day-old broilers had BW of 2,631 kg to 2,896 kg. In trials II and III, the final BW of birds was significantly higher in group BP than in group L. Moreover, long-term exposure to the biocidal paint did not decrease the BW of birds throughout the experiment. The body weights of broilers noted in this study were comparable with those reported by Witkowska et al. (2007) and higher than those reported by other researchers for birds raised under similar management and housing conditions (de Castro Burbarelli et al., 2015; de Castro Burbarelli et al., 2017; Witkowska et al., 2019). The BW and BWG values obtained in the research are similar to the standard growth rate of Ross 308 chickens (Aviagen, 2019).



*significant differences ($P < 0,05$) between groups L (liming) and BP (biocidal paint). Long-term exposure to the biocidal paint had no significant effect on the average values of the parameters across trials.

Fig. 1. Average body weight of broiler chickens (kg) during rearing (days)



*significant differences ($P < 0.05$) between groups L (liming) and BP (biocidal paint). Long-term exposure to the biocidal paint had no significant effect on the average values of the parameters across trials.

Fig. 2. Average daily body weight gain (g) of broiler chickens during rearing (days)

Table 4

Average values of performance parameters of broiler chickens in trials I, II and III

	Parameter		Liming	Biocidal paint
Trial I	Initial body weight (kg)		0,0466±0,28	0,0388±0,22
	Final body weight (kg)		2,896±99	2,812±95
	Mortality (%)		5,16	1,98
	Feed conversion rate (g feed/g body weight gain)	1-7 days	0,71±0,17	0,68±0,10
		7-14 days	1,15±0,22	1,22±0,19
		14-21 days	1,35±0,12	1,31±0,08
		21-28 days	1,52±0,11	1,47±0,18
		28-35 days	1,69±0,06	1,64±0,02
		35-40 days	1,83±0,07	1,89±0,09
		1-40 days	1,75±0,13	1,74±0,15
	European Broiler Index		392,44	395,07
Trial II	Initial body weight (kg)		0,0436±0,31	0,0428±0,25
	Final body weight (kg)		2,631^{b}±111	2,872^{a}±119
	Mortality (%)		5,36	1,63
	Feed conversion rate (g feed/g body weight gain)	1-7 days	0,73±0,10	0,80±0,04
		7-14 days	1,22±0,08	1,25±0,07
		14-21 days	1,44±0,02	1,46±0,05
		21-28 days	1,62±0,07	1,60±0,10
		28-35 days	1,74±0,05	1,77±0,09
		35-40 days	1,89±0,05	1,88±0,05
		1-40 days	1,74±0,05	1,77±0,11
	European Broiler Index		349,77	407,21
Trial III	Initial body weight (kg)		0,0399±0,19	0,0388±0,20
	Final body weight (kg)		2,656^{b}±107	2,822^{a}±110
	Mortality (%)		5,43	1,36
	Feed conversion rate (g feed/g body weight gain)	1-7 days	0,99±0,05	1,01±0,02
		7-14 days	1,28±0,05	1,31±0,01
		14-21 days	1,49±0,03	1,50±0,09
		21-28 days	1,70±0,02	1,69±0,07
		28-35 days	1,88±0,04	1,80±0,05
		35-40 days	1,94±0,02	1,95±0,04
		1-40 days	1,77±0,03	1,75±0,04
	European Broiler Index		357,10	396,56

Different lowercase letters (a, b) indicate significant differences ($P < 0,05$) between groups L (liming) and BP (biocidal paint). Long-term exposure to the biocidal paint had no significant effect on the average values of the parameters across trials standard deviation (SD).

Research has shown that mortality in poultry flocks is determined by numerous factors, and that it has decreased in recent years (Witkowska et al., 2007; van Limbergen et al., 2020; Utnik-Banaś, 2017; Witkowska et al., 2019), most likely due to improved flock management strategies and the search for innovative technological solutions in poultry farming. In the present study, in trial I, bird mortality was 3,18% lower in group BP than in group L. In trials II and III, the difference between groups reached 3,73% and 4,07%, respectively. According to Szöllősi and Szűcs (2014), average mortality rates in broilers in selected EU member states range from 3,7% to 4,5%. In the current experiment, mortality in group BP never exceeded 2%, which is highly satisfactory in terms of both production profitability and bird welfare. Properly selected disinfection and insect control methods play a key role in poultry farms. Moreover, increased mortality generates economic losses.

The FCR in both groups was somewhat higher than the values reported by de Castro Burbarelli et al. (2015) and Witkowska et al. (2019) and the standard growth rate of Ross 308 chickens (Aviagen, 2019). On the other hand, higher FCR values were noted in a study investigating the effects of dietary modifications on the productive performance of broilers (Mohammed and Abbas, 2009). According to Szöllősi and Szűcs (2014), the average FCR for broilers in Poland is 1,76; and similar values were obtained for both groups in this study. The FCR was better in group BP, as manifested by higher final BW at comparable feed consumption.

Broiler production efficiency in both groups was evaluated based on the EBI. The higher the value of the index, the higher the performance and the better the health status of birds (Bhamare et al., 2016; Kryeziu et al., 2018). In the present study, the EBI ranged from 349,77 to 407,21, and it was higher in group BP in each trial.however, the EBI values were similar in both groups, most likely because final BW was higher in group L, possibly due to its significantly higher initial value in comparison to group BP. These results indicate that the biocidal paint did not compromise bird performance, as the EBI values did not decrease in successive trials. Agricultural progress has contributed to an improvement in the performance parameters analysed in this study, leading to better economic results.

Analysis of the average values of blood parameters presented in Table 5 revealed changes in blood cholesterol and triglyceride concentrations in trials II and III, depending on the disinfection and insect control method. The average values of these parameters were significantly higher in group BP in trials II and III, but the differences were at the significance threshold. No significant differences in the levels of AST, ALT, GGT or urea were found between groups. Long-term exposure to the biocidal paint had no significant effect on blood parameters, whose average values did not differ significantly across trials.

Table 5

Average values of selected blood biochemical parameters of broiler chickens in trials I, II and III

Parameter	Trial I		Trial II		Trial III	
	Liming	Biocidal paint	Liming	Biocidal paint	Liming	Biocidal paint
AST (U/L)	338,73±56,23	329,92±56,39	281,08±88,02	291,76±88,90	301,04±60,59	328,79±55,81
ALT (U/L)	2,78±0,05	2,79±0,11	2,71±0,09	2,65±0,03	2,67±0,10	2,71±0,11
GGT (U/L)	20,01±1,31	21,72±1,75	19,98±1,15	20,99±1,44	22,21±2,18	21,91±1,64
Urea (mg/dL)	1,21±0,23	1,28±0,12	1,38±0,28	1,30±0,21	1,29±0,15	1,25±0,10
Cholesterol (mg/dL)	169,21±5,34	168,77±7,21	153,47^{b}±4,98	171,58^{a}±11,21	151,56^{b}±5,01	169,26^{a}±9,58
Triglycerides (mg/dL)	128,09±2,32	126,07±2,61	117,25^{b}±2,09	125,49^{a}±2,58	115,28^{b}±1,99	128,51^{a}±2,78

AST – aspartate aminotransferase, ALT – alanine aminotransferase, GGT – gamma-glutamyl transpeptidase
Different lowercase letters (a, b) indicate significant differences ($P < 0,05$) between groups L (liming) and BP (biocidal paint). Long-term exposure to the biocidal paint had no significant effect on the average values standard deviation (SD) of the parameters across trials.

Changes in blood biochemical parameters can be the first symptom of disease or poisoning with toxic substances (Jurani et al., 2004; Rajman et al., 2006; Özeby and Esen, 2007; Tessari et al., 2010; Erdelyi et al., 2011). These parameters are more difficult to interpret in poultry than in other livestock species. Birds are characterized by greater individual variation than in other animals, and the ranges of physiological parameters are broader (Fritz et al., 2000; Piotrowska et al., 2011; Kowalczuk-Vasilew et al., 2017).

The liver is the main organ responsible for numerous digestive, metabolic and production processes; for this reason its susceptibility to damage can vary. Liver damage is assessed based on the serum concentrations of specific liver enzymes. These enzymes can lead to dysfunctions in various bodily systems, which can compromise bird health and performance. AST, ALT and GGT are bioindicators of liver function; increased levels of these enzymes are usually indicative of liver damage (Aikpitanyi and Egweh, 2020).

Many researchers have found that AST activity in chickens increases with age (Silva et al., 2007; Tessari et al., 2010; Kudair and Al-Hussary, 2010). High or excessive AST levels can be indicative of poisoning with toxic substances. However, AST activity is also observed in other organs (the heart, kidneys, brain and skeletal muscles), and the specificity of this enzyme as an indicator of liver damage may be limited (Tessari et al., 2010). According to Kokore et al. (2021), the AST level in poultry should not exceed 230 U/L. In the present study, AST levels exceeded this value in both groups (L and BP), ranging from 281,08 to 338,73 U/L during the entire experiment. Nevertheless, biocidal paint does not appear to exert negative effects on AST activity.

Serum ALT levels were determined in order to test for any toxic effect of the biocidal paint (Ozer et al., 2008). No significant differences in the activity of this enzyme were noted in response to the disinfection and insect control methods, and it was comparable in all birds.

The levels of GGT, which is a useful indicator of liver disease, were also determined in this study. GGT levels in poultry are usually highest at 35 days of age. This may be explained by the fact that feed intake is highest in the fifth week of production, which intensifies metabolic processes in the liver (Silva et al., 2007). In the present study, GGT levels ranged from 19,98 to 22,21 U/L. Similar values (20,40-23,15 U/L) were reported by Safaeikatouli et al. (2010), whereas GGT activity in the blood serum of broilers was lower (by about 5,5 U/L) in a study by Subapriya et al. (2007). These results confirm that GGT activity is influenced by high genetic variation in birds as well as by other factors.

Serum urea levels in birds and their health implications have been studied since the first half of the 20th century (Dyer and Roe, 1933; Howell, 1939). The reference range for birds is 3,3-7,2 mg/dL. Urea is the final product of protein metabolism in the body. High urea levels may be indicative of kidney dysfunction. In birds fed protein-rich diets, excess urea is usually excreted in the urine (Karsawa and Maeda, 1994). To exclude the effect of this factor in the current experiment, all broilers were fed identical diets with identical protein content. Serum urea levels ranged from 1,21 to 1,38 mg/dL in both groups. These values can be considered normal and indicative of adequate dietary protein utilization and the absence of toxic substances in the birds' immediate environment (Nworgu et al., 2007; Polat et al., 2011).

Blood and serum cholesterol levels are also affected by genetic factors, feed type, and medicines (Hargis, 1988). Serum triglyceride levels are mainly determined by diet, hormones and diseases (Regar et al., 2019). In the present study, the blood cholesterol concentrations of broilers ranged from 151,56 to 169,21 mg/dL in group L, and from 168,77 to 171,58 mg/dL in group BP. The respective values for triglyceride concentrations were 115,28-128,09 mg/dL and 125,49-128,51 mg/dL. According to Regar et al. (2019), normal serum cholesterol and triglyceride levels in broiler chickens are 125 to 200 mg/dL and $\leq$ 150 mg/dL, respectively. Even the highest values of these parameters determined in this study did not exceed those limits. The elevated blood cholesterol and triglyceride concentrations in chickens from group BP may have been associated with their significantly higher BW. Cholesterol comes from two sources: exogenous cholesterol is derived from feed, and endogenous cholesterol is produced by the body (Regar et al., 2019).

Based on the results of the liver enzyme analysis and serum urea levels, as well as the cholesterol and triglyceride levels, no toxic effects for chickens should be attributed to the biocidal paint, especially given that changes in the biochemical parameters of the blood are most often the first symptom of poisoning by toxic substances.

CONCLUSIONS

The biocidal paint was used only once as a disinfectant and insecticide and did not compromise the growth performance or blood biochemistry of broiler chickens. Long-term exposure to the biocidal paint also had no significant negative effect on bird performance or blood biochemical parameters. The results of this study suggest that the biocidal paint can be recommended as a long-lasting disinfection and insect control method that is less laborious to apply than liming and positively affects the performance and health status of chickens by improving sanitary conditions in the poultry house.

REFERENCES

1. Abd Ali S. A. Z., Joubert A., Andrès Y. (2021). Evaluation of antimicrobial effect of zinc pyrithione against airborne fungi and bacteria growth collected onto new and loaded HVAC fibrous filters. Processes, 9: 1528, doi: https://doi.org/10.3390/pr9091528
2. Aikpitanyi K. U., Egweh N.O. (2020). Haematological and biochemical profile of broiler chickens fed diets containing ginger and black pepper additives. Nigerian Journal of Animal Science, 22: 114-125
3. Aviagen. (2019). Ross 308 performance objectives.
4. Battersby T., Walsh D., Whyte P., Bolton D. (2017). Evaluating and improving terminal hygiene practices on broiler farms to prevent *Campylobacter* cross-contamination between flocks. Food Microbiology, 64: 1-6, doi: https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.018
5. Battersby T., Whyte P., Bolton D. (2016). The pattern and sources of *Campylobacter* on broiler farms. Journal of Applied Microbiology, 120: 1108-1118, doi: https://doi.org/10.1111/jam.13066
6. Bhamare K. S., Dildeep V., Senthil M. S., Chavan S. J. (2016). Nutritive evaluation of cashew apple waste in broilers. International Journal of Science and Nature, 7: 629-632
7. Biesek J., Kuźniacka J., Banaszak M., Kaczmarek S., Adamski M., Rutkowski A., Zmudzińska A., Perz K., Hejdysz M. (2020). Growth performance and carcass quality in broiler chickens fed on legume seeds and rapeseed meal. Animals, 10: 846, doi: https://doi.org/10.3390/ani10050846
8. Bissinger B. W., Apperson C. S., Watson, D. W., Arellano C., Sonenshine D. E., Roe R. M. (2011). Novel field assays and the comparative repellency of BioUD®, DEET and permethrin against *Amblyomma americanum*. Medical and Veterinary Entomology, 25: 217-226
9. Cavia R., Guidobono J. S., Fraschina J., Buch M. (2019). Effects of physical barriers and eradication on recolonization of rodents in poultry farms. International Journal of Pest Management, 65: 370-380, doi: https://doi.org/10.1080/09670874.2018.1530485
10. Colombino E., Ferrocino I., Biasto I., Cocolin L. S., Prieto-Botella D., Zduńczyk Z., Jankowski J., Milala J., Kosmala M., Fotschki B., Capucchio T. M., Juśkiewicz J. (2020). Dried fruit pomace inclusion in poultry diet: growth performance, intestinal morphology and physiology. Journal of Animal Science and Biotechnology. 11: 53, doi: https://doi.org/10.1186/s40104-020-00464-z
11. Cronin T. W., Bok M. J. (2016). Photoreception and vision in the ultraviolet. Journal of Experimental Biology, 219: 2790-2801, doi: https://doi.org/10.1242/jeb.128769
12. de Castro Burbarelli M. F., do Valle Polycarpo G., Deliberali Lelis K., Granghelli C. A., Carão de Pinho A. C., Queiroz S. R. A., Fernandes A. M., de Souza R. L. M., Moro M. E. G., de Andrade Bordin R., de Albuquerque R. (2017). Cleaning and disinfection programs against *Campylobacter jejuni* for broiler chickens: productive performance, microbiological assessment and characterization. Poultry Science, 96: 3188-3198, doi: https://doi.org/10.3382/ps/pex153
13. de Castro Burbarelli M. F., Merseguel C. E. B., Ribeiro P. A. P., Lelis K. D., Polycarpo G. V., Carão de Pinho A. C., Bordin R. A., Fernandes A. M., Souza R. L. M., Moro M. E. G., de Albuquerque R. (2015). The effects of two different cleaning and disinfection programs on broiler performance and microbiological status of broiler houses. Brazilian Journal of Poultry Science, 17: 575-580, doi: https://doi.org/10.1590/1516-635X1704575-580
14. Di Martino P. (2020). Ways to improve biocides for metalworking fluid. AIMS Microbiology, 7: 13-27, doi: https://doi.org/10.3934/microbiol.2021002.

15. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22nd September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. (2010). Official Journal of the European Union, L 276: 33
16. Dzik S., Mituniewicz T. (2020). Effectiveness of biocidal paint containing permethrin, ultramarine and violet 23 against *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in laboratories and poultry houses. Animals, 10: 1461, doi: https://doi.org/10.3390/ani10091461
17. Dzik S., Mituniewicz T., Beisenov A. (2022). Efficacy of a biocidal paint in controlling *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) and improving the quality of air and litter in poultry houses. Animals, 12: 1264, doi: https://doi.org/10.3390/ani12101264
18. Dyer H. M., Roe J. H. (1933). The chemistry of the blood of normal chickens. The Journal of Nutrition, 7: 623-626
19. EC (2019), EU agricultural outlook for markets and income, 2019-2030. European Commission, DG Agriculture and Rural Development, Brussels
20. Erdelyi M., Weber M., Balogh K., Ancsin Z., Mezes M. (2011). The effect of feeding a diet naturally contaminated with deoxynivalenol on production traits and selected biochemical indicators of broiler chickens. Acta Veterinaria Brno, 80: 287-292, https://doi.org/10.2754/avb201180030287
21. Fankhauser B. B., Dumont P., Hunter J. S., McCall J. W., Kaufmann C., Mathis A., Young D. R., Carroll S. P., McCall S., Chester S. T. (2015). Repellent and insecticidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against three mosquito species (*Aedes albopictus, Aedes aegypti* and *Culex pipiens*) on dogs. Parasites Vectors, 8: 64
22. Fritz Z., Kinal S., Schleicher A. (2000). Herbal extracts in broiler chicken nutrition (in Polish). Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Zootechnika, 384: 57-68
23. Hargis S. P. (1988). Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a review. World Poultry Journal Science, 44: 17-19
24. Hartley D., Kidd H. (1983). The Agrochemicals Handbook. Nottingham, UK, Royal Society of Chemistry.
25. Howell S. F. (1939). The determination of the urea in chicken blood. The Journal of Biological Chemistry, 128: 573-578
26. Jones P.J., Niemi J., Christensen J. P., Tranter R. B., Bennett R. M. (2018). A review of the financial impact of production diseases in poultry production systems. Animal Production Science, 59: 1585-1597, doi: https://doi.org/10.1071/AN18281
27. Jurani M., Vyboh P., Zeman M., Lamosova D., Kostal L., Blazicek P. (2004). Post-hatching dynamics of plasma biochemistry in free-living European starlings (Sturnus vulgaris). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 138: 89-95
28. Karasawa J., Maeda M. (1994). Role of caeca in the nitrogen nutrition of the chicken fed on a moderate protein diet or a low protein diet plus urea. British Poultry Science, 35: 383-391
29. Kokore B. A., Bleyere N. M., Kamagate S., Yapo P. A. (2021). Blood biochemical parameters exploration in broilers and local chickens in Korhogo, Côte d'Ivoire. American Journal of Food and Nutrition, 9: 82-86, doi: https://doi.org/10.12691/ajfn-9-2-4
30. Kowalczuk-Vasilev E., Grela E. R., Samolińska W., Klebaniuk R., Kiczorowska B., Krusiński R., Winiarska-Mieczan A., Kępka K., Kwiecień M. (2017). Blood metabolic profile of broiler

chickens fed diets with different types and levels of inulin. Veterinary Medicine – Science and Practice, 73: 774-780, doi: https://doi.org/10.21521/mw.5821

31. Kryeziu A. J., Mestani N., Berisha S., Kamberi M. A. (2018). The European performance indicators of broiler chickens as influenced by stocking density and sex. Agronomy Research 16: 483-491, doi: https://doi.org/10.15159/AR.18.040
32. Kudair I. M., Al-Hussary N. A. J. (2010). Effect of vaccination on some biochemical parameters in broiler chickens. Iraqi Journal of Veterinary Science, 24: 59-64, doi: https://doi.org/10.33899/ijvs.2010.5604
33. Mituniewicz T., Dzik S. (2020). Characteristics of lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) (in Polish). Veterinary Medicine – Science and Practice, 76: 143-149, doi: https://doi.org/10.21521/mw.6376
34. Mohammed A. A., Abbas R. J. (2009). The effect of using fennel seeds (*Foeniculum vulgare* L.) on productive performance of broiler chickens. International Journal of Poultry Science 8: 642-644
35. Monte-Serrano M., Fernandes-Saiz P., Orti-Lucas R. M., Hernando B. (2015). Effective antimicrobial coatings containing silver-based nanoclays and zinc pyrithione. Journal of Microbial & Biochemical Technology, 7: 6, doi: https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000245
36. Mosqueira B., Chabi J., Chandre F., Akogbeto M., Hougard J. M., Carnevale P., Mas Coma S. (2010). Efficacy of an insecticide paint against malaria vectors and nuisance in West Africa - Part 2: Field evaluation. Malaria Journal, 9: 341
37. Mottet A., Tempio G. (2017). Global poultry production: current state and future outlook and challenges. Worlds Poultry Science Journal, 73: 245-256, doi: https://doi.org/10.1017/S0043933917000071
38. Nworgu F. C., Ogungbenro S. A., Solesi K. S. (2007). Performance and some blood chemistry indices of broiler chicken served fluted pumpkin (*Telfaria occidentalis*) leaves extract supplement. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 2: 90-98
39. Ogden I. D., Dallas J. F., MacRae M., Rotariu O., Reay K. W., Leitch M., Thomson A. P., Sheppard S. K., Maiden M., Forbes K. J., Strachan N. J. C. (2014). *Campylobacter* excreted into the environment by animal sources: prevalence, concentration shed, and host association. Foodborne Pathogens and Disease, 6: 1161-1170, doi: https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0327
40. Ozer J., Ratner M., Shaw M., Bailey W., Schomaker S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. Toxicology, 245: 194-205, doi: https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.11.021
41. Özeby O., Esen F. (2007). The effects of breeding systems and stocking density on some blood parameters of rock partridges (*Alectoris graeca*). Poultry Science, 86: 420-422, doi: https://doi.org/10.1093/ps/86.2.420
42. Piotrowska A., Burlikowska K., Szymeczko R. (2011). Changes in blood chemistry in broiler chickens during the fattening period. Folia Biologica, 59: 183-187
43. Polat U., Yesilbag D., Eren M. (2011). Serum biochemical profile of broiler chickens fed diets containing rosemary and rosemary volatile oil. Journal of Biological and Environmental Sciences, 5: 23-30
44. PubChem. Available online: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/40326 (accessed on 24 Apr 2022)

45. Rajman M., Jurani M., Lamoxova D., Maeajova M., Sedlaekova M., Kostal L., Jezova D., Vyboh P. (2006). The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 145: 363-371, doi: https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.07.004
46. Reeder N. L., Xu J., Youngquist R. S., Schwartz J. R., Rust R. C., Saunders C. W. (2011). The antifungal mechanism of action of zinc pyrithione. British Journal of Dermatology, 165: 9-12. doi: https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10571.x
47. Regar M. N., Tulung B., Londok J. J. M. R., Moningkey S. A. E., Tulung Y. R. L. (2019). Blood lipid profile of broiler chicken as affected by a combination of Feed restriction and different crude fiber sources. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 387: 012053, doi: https://doi.org/10.1088/1755-1315/387/1/012053
48. Regulation of the Minister for Agriculture and Rural Development of 15th February 2010 on the requirements and procedures for keeping species of farm animals for which standards of protection are laid down in European Union legislation. (2010). No 56, 344
49. Ridley A. M., Morris V. K., Cawthraw S. A., Ellis-Iversen J., Harris A., Kennedy E. M., Newell D. G., Allen V. M. (2011). Longitudinal molecular epidemiological study of thermophilic *Campylobacters* on one conventional broiler chicken. Applied and Environmental Microbiology, 77: 98-107, doi: https://doi.org/10.1128/AEM.01388-10
50. Safaeikatouli M., Jafariahangari Y., Baharlouei A. (2010). Effects of dietary inclusion of sodium bentonite on biochemical characteristics of blood serum in broiler chickens. International Journal of Agriculture and Biology, 12: 877-880
51. Sharkey C. R., Fujimoto M. S., Lord N. P., Shin S., McKenna D. D., Suvorov A., Martin G. J., Bybee S. M. (2017). Overcoming the loss of blue sensitivity through opsin duplication in the largest animal group, beetles. Science Reports, 7: 1-10
52. Silva P. R. L., Reaitas Neto O. C., Laurentiz A. C., Junqueira O. M., Fagliari J. J. (2007). Blood serum components and serum protein test of hybro-pg broilers of different ages. Brazilian Journal of Poultry Science, 4: 229-232, doi: https://doi.org/10.1590/S1516-635X2007000400004
53. Subapriya S., Vairamuthu S., Murali-Manohar B., Balachandran C. (2007). Clinicopathological investigation on thiram toxicosis in broiler chicken. International Journal of Poultry Science, 6: 242-244, doi: https://doi.org/10.1016/10.3923/ijps.2007.242.244
54. Szőllősi L., Szűcs I. (2014). An economic approach to broiler production. A case study from Hungary. Annals of The Polish Association of Agricultural and Agribusiness, 16: 275-281
55. Tessari E. N. C., Kobashigawa E., Cardoso A. L. S. P., Ledoux D. R., Rottinghaus G. E., Oliviera C. A. F. (2010). Effects of aflatoxin B1 and fumonisin B1 on blood biochemical parameters in broilers. Toxins, 2: 453-460, doi: https://doi.org/10.3390/toxins2040453
56. TIBCO Statistica, v. 13.3.0; TIBCO Software Inc.: Palo Alto, CA, USA, 2017
57. Utnik-Banaś K. (2017). Progress versus production costs of live broiler chickens in Poland between 1994 and 2015. Zagadnienia Ekonomiki Rolnej, 3:60-73, doi: https://doi.org/10.30858/zer/83032
58. Van Limbergen T., Sarrazin S., Cantziaras I., Dewulf J., Ducatelle R., Kyriazakis I., McMullin P., Méndez J., Niemi J.K., Papasolomontos S., Szeleszczuk P., Van Erum J., MaesD. (2020). Risk factors for poor health and performance in European broiler production systems. BMC Veterinary Research, 16: 287, doi: https://doi.org/10.1186/s12917-020-02484-3

59. Wahyono N. D., Utami M. M. D. (2018). A review of the poultry meat production industry for food safety in Indonesia. Journal of Physics: Conference Series, 953: 121-25, doi: https://doi.org/10.1088/1742-6596/953/1//012125
60. Wang X. X., Zhang T. Y., Dao G. H., Hu H. Y. (2018). Interaction between 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one and microalgae: growth inhibition and detoxification mechanism. Aquatic Toxicology, 205: 66-75, doi: https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.10.002
61. Witkowska D., Sowińska J., Murawska D., Matusevičius O., Kwiatkowska-Stenzel A., Mituniewicz T., Wójcik A. (2019). Effect of peppermint and thyme essential oil mist on performance and physiological parameters in broiler chickens. South African Journal of Animal Science, 49: 29-39, doi: http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v49i1.4
62. Witkowska D., Szarek J., Iwańczuk-Czernik K., Sowińska J., Mituniewicz T., Wójcik A., Babińska I. (2007). Effect of disinfecting litter on rearing performance and results of blood indices and internal organs of broiler chickens (in Polish). Veterinary Medicine – Science and Practice, 63: 1115-1119
63. Zaboli G. R., Rahimi S., Shariatmadari F., Torshizi M. A. K., Baghbanzadeh A., Mehri M. (2017). Thermal manipulation during Pre and Post-Hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress. Poultry Science, 96: 478-485, doi: https://doi.org/10.3382/ps/pew344
64. Zaim M., Aitio A., Nakashima N. (2000). Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. Medical and Veterinary Entomology, 14: 1-5

Funding sources

The article was written as a result of the author's internship at Banaś Poultry Farms, co-financed by the European Union under the European Social Fund (Operational Program Knowledge Education Development), carried out in the project Development Programme at the University of Warmia and Mazury in Olsztyn (POWR.03.05. 00-00-Z310/17).

Załącznik 4b – oświadczenie współautorów

Olsztyn, dnia 07.06.2022 r.

Autorzy:

SARA DZIK
TOMASZ MITUNIEWICZ
DARIUSZ ZAJUSKI

Redaktor naczelny
czasopisma naukowego
„ANIMAL SCIENCE AND GENETICS"

OŚWIADCZENIE AUTORÓW

Udział poszczególnych autorów w powstaniu publikacji pt. **"The effect of a biocidal paint as a disinfectant and disinsectant on the growth performance and blood biochemical parameters of broiler chickens"** przedstawiono w tabeli poniżej.

Współautor (Imię i Nazwisko)	% udział w pracy	Wyszczególnienie wkładu
SARA DZIK	80	Koncepcja, metodyka, walidacja, analiza danych, przygotowanie manuskryptu, odpowiedzi na recenzje, pozyskiwanie środków finansowych
TOMASZ MITUNIEWICZ	10	Analiza danych, wkład merytoryczny, korekta manuskryptu
DARIUSZ ZAJUSKI	10	Analiza danych, wkład merytoryczne, korekta manuskryptu

Z powiązaniem

Podpisy autorów:

1. .....
2. .....
3. .....