Научная статья

УДК 619:576.89:595.7:636.52/.58

Выявление возбудителей инфекционных вирусных болезней кур в синантропных насекомых, населяющих корпуса для содержания птицы

Сергей Владимирович Леонов, Юрий Георгиевич Юшков, Владимир Сергеевич Городов, Екатерина Александровна Тареева

Сибирский федеральный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН), Краснообск, Новосибирская обл.

Аннотация: *Синантропные насекомые, населяющие корпуса для содержания кур могут являться переносчиками вирусных болезней кур. Целью опытов была отработка методов сбора и отлова насекомых в корпусах содержания птицы на птицеводческих предприятиях, а также выявление возбудителей вирусных инфекционных болезней кур в отловленных особях методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для отлова жуков-чернотелок (Alphitobius diaperinus) в птичниках с напольным содержанием птицы использовались ловушки собственной разработки и изготовления. Сбор личинок комнатной мухи (Musca domestica) проводили в птичниках с клеточным содержанием цыплят-бройлеров с 35 суток их выращивания. В отловленных насекомых (66 проб жуков и 38 проб личинок мух) методом ПЦР выявляли генетический материал возбудителей инфекционных болезней кур: РНК вирусов инфекционной бурсальной болезни, инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни, реовирусной инфекции кур, и ДНК вируса инфекционной анемии цыплят. Установлено, что в личинках мух встречается генетический материал всех изученных вирусных инфекций, а у жуков – всех, кроме реовируса. Сделаны выводы об эффективности разработанного метода отлова жуков и о вероятности наличия трансмиссивного механизма передачи вирусных болезней птиц, что нужно учитывать при санитарной подготовке помещений перед посадкой птицы.*

Ключевые слова: *жук-чернотелка (Alphitobius diaperinus), комнатная муха (Musca domestica), вирусные болезни кур, ловушка для отлова жуков, помещения для содержания птицы.*

Для цитирования: *Леонов, С.В. Выявление возбудителей инфекционных вирусных болезней кур в синантропных насекомых, населяющих корпуса для содержания птицы / С.В. Леонов, Ю.Г. Юшков, В.С. Городов, Е.А. Тареева // Птицеводство. – 2024. – №3. – С. 53-58.*
doi: 10.33845/0033-3239-2024-73-3-53-58

Введение. Промышленное птицеводство является одной из наиболее развитых отраслей сельского хозяйства. Основой работы ветеринарных специалистов является проведение плановых противоэпизоотических мероприятий, в том числе включающих в себя мониторинг эпизоотической обстановки. Для этого используется биоматериал от птицы, различные виды мазков и смывов из мест содержания, пробы кормов и их ингредиентов, воды. В некоторых случаях, а также для мониторинга зоонозных инфекций, используют отбор материала от синантропной птицы [1].

В помещениях птицеводческих предприятий встречаются эктопаразиты птиц, а также различные виды свободноживущих членистоногих. Среди насекомых наиболее распространены зоофильные и синантропные мухи, различные виды жуков. Искусственно поддерживаемые постоянные условия микроклимата способствуют их размножению в течение всего года, независимо от сезонности [2]. Среди свободно живущих жуков наиболее распространены жуки-чернотелки, насекомые сем. *Tenebrionidae*, личиночные формы которых известны как «мучные черви». Наиболее хорошо описаны жуки вида *Alphitobius diaperinus*. Они повсеместно встречаются в корпусах, где содержится птица, обитают преимущественно в подстилке, питаются кормом для птицы, трупами павшей птицы, пухом и пером, пометом, подстилочным материалом [3].

Известно, что насекомые могут являться переносчиками различных бактериальных и вирусных инфекций, являются промежуточными хозяевами нематод и цистод. Поэтому выявление в популяциях жуков и мух возбудителей различных инфекционных заболеваний

может служить дополнительным источником информации об эпизоотической ситуации на птицеводческом предприятии.

Целями данной работы являлись отработка метода отлова и сбора насекомых в корпусах содержания птицы на птицеводческих предприятиях, а также выявление возбудителей различных инфекционных болезней кур в отловленных особях методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Материал и методика исследований. Работа выполнена в Институте экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН, в лаборатории болезней птиц, в 2019-2021 гг. Материалом исследования являлись насекомые, отловленные на птицефабриках Уральского Федерального округа, в корпусах клеточного и напольного содержания птицы с древесными опилками в качестве подстилки. В исследуемых корпусах, где проводился отлов насекомых, проводились стандартные ветеринарные мероприятия. Применялись коммерческие вакцинные препараты против инфекционной бурсальной болезни (ИББ), инфекционного бронхита кур (ИБК) и ньюкаслской болезни (НБ) на основе авирулентных штаммов. Вакцинация проводилась групповым методом через систему поения.

Для отлова жуков использовались ловушки собственной разработки и изготовления. Ловушки располагались в корпусах, где содержались цыплята-бройлеры напольным способом. Ловушки устанавливали до момента посадки птицы, но после заключительной газации и проветривания. Размещались ловушки под системами поения и кормления. Ловушка закрывалась опилками до верхнего уровня. Замена и отбор ловушек проводились один раз в 7-10 суток. Ловушку помещали в пакет с зажимом, маркировали и отправляли в лабораторию.

В качестве приманки для жуков использовалась смесь из корма для собак с добавлением меда [4].

Поскольку массовый выплод мух совпадает с забоем птицы в корпусах, для исследования двукрылых на наличие возбудителей инфекционных болезней кур было решено использовать личинки комнатной мухи (*Musca domestica*). Сбор личинок осуществляли с 35 суток содержания птицы в местах вокруг пометных лент, на стенах.

Для выделения нуклеиновой кислоты использовался один жук, либо одна личинка мухи в качестве одной пробы. Всего было исследовано 66 проб жуков и 38 проб личинок мух на выявление РНК возбудителей ИББ, ИБК, НБ, реовирусной инфекции кур (РЕО), и ДНК возбудителя инфекционной анемии цыплят (ИАЦ).

Для выделения ДНК и РНК, а также выявления нуклеиновых кислот в биоматериале от жуков, использовались наборы различных производителей, согласно инструкциям их производителей.

Результаты исследований. ***Разработка ловушки для отлова насекомых в корпусах птицеводческих предприятий.*** Для отлова жуков-чернотелок на птицеводческих предприятиях предложено два основных типа ловушек. Первый тип представляет собой «сэндвич»-конструкцию из различных листовых материалов (различные виды стеновых панелей, сосновые доски), закрепляемых на подстилке с помощью железных поддонов. Второй тип представляет собой различные варианты на основе труб из полимерных материалов, заполненных скрученным гофрированным картоном. Считается, что ловушки второго типа обладают большей эффективностью [5].

Нами были использованы подобные конструкции на основе отрезка полипропиленовой трубы диаметром 3,2 см и длиной 10-12 см. В первом варианте ловушек полость трубы заполняли свернутыми листами гофрированного картона с размером ячеек 4-6 мм. При этом в ловушках, расположенных под системами поения, наблюдалось увлажнение и набухание картона, что вызывало сложности с извлечением жуков из слоев гофры. В дальнейшем было предложено закрывать один конец трубы плотной крышкой, что позволяет сократить непосредственный контакт картона с окружающей средой, и, соответственно, снизить его намокаемость. Однако в этом случае сокращалось количество жуков в ловушке. Для привлечения насекомых решено было использовать приманку. При этом картоном была заполнена не вся полость трубы, а только вход, на расстояние не менее 50 мм, а приманка располагалась в полости трубы. В дальнейшем гофрированный картон был заменен аналогом пробки собственной разработки, напечатанной на 3D-принтере, имеющей шестигранную ячейку на всю длину пробки (рис. 1). Это позволило избегать намокания и разрушения ловушки и препятствовало росту плесневых грибов.

В финальном варианте вместо прямой трубы использовали ПВХ-трубу, изогнутую под углом 45^0, что позволяло создать дополнительное затемнение (рис. 2).

При вскрытии ловушек, размещавшихся в корпусах напольного содержания птицы на срок до 10 суток, удавалось поймать до 21 взрослой особи жуков-чернотелок.

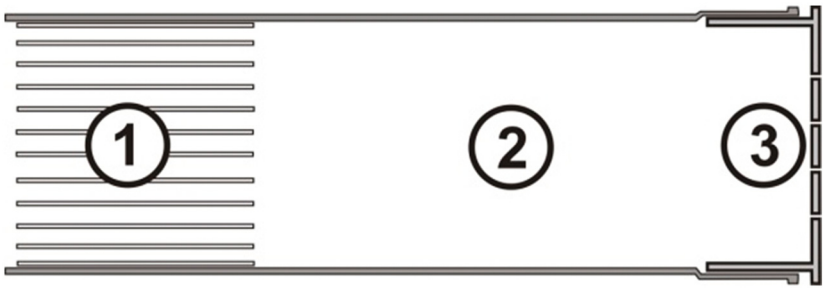

Рис. 1. Схема ловушки для отлова жуков в корпусах птицеводческих предприятий. 1 – вход в ловушку, закрытый пробкой с ячейками. 2 – полость трубы для размещения приманки. 3 – глухая крышка с перфорацией диаметром 1 мм.

Рис. 2. Ловушка для отлова синантропных жуков в корпусах содержания птицы.

Выявление возбудителей вирусных болезней кур от жуков-чернотелок. Отлов жуков проводился в пяти корпусах на птицефабриках Уральского Федерального округа. Для простоты обозначения корпуса пронумерованы с №1 по №5. Корпуса №4 и №5 соответствуют одному предприятию и находятся на одной площадке. Оставшиеся корпуса соответствуют разным предприятиям. Одной пробой для выявления генетического материала возбудителей инфекционных заболеваний кур являлась одна взрослая особь жука-чернотелки. Результаты исследования представлены в табл. 1. Генетический материал возбудителей ИББ, ИБК, НБ, ИАЦ не обнаружен только в пробах из корпуса №1. В пробах из корпуса №2 генетический материал ИБК выявлен во всех 10 пробах, а генетический материал РЕО не был выявлен ни в одной из проб.

Выявление возбудителей вирусных болезней кур от личинок комнатной мухи. Сбор личинок проводился в трех корпусах клеточного содержания бройлеров на птицефабриках Уральского Федерального округа. Корпуса пронумерованы с №1 по №3 и соответствуют различным предприятиям. В корпусе №1 сбор личинок мух проводили после мойки оборудования. Одной пробой для выявления генетического материала возбудителей инфекционных заболеваний кур являлась одна личинка мухи. Результаты исследования представлены в табл. 2. В личинках мух, отобранных в корпусе №1, обнаружен генетический материал всех изученных возбудителей. Геном реовируса кур выявлен только среди личинок мух из корпуса №1 (табл. 2).

Обсуждение результатов исследований. Разработанные нами ловушки позволили эффективно отлавливать жуков-чернотелок, обитающих в корпусах содержания цыплят-бройлеров. Сбор личинок комнатной мухи в корпусах с клеточным содержанием бройлеров не представляет сложностей. После 30 суток выращивания птицы личинки обнаруживаются под лентами для сгребания помета, в пометоприемниках.

Нами установлено, что в биоматериале от жуков-чернотелок выявляется генетический материал возбудителей ИББ, ИБК, НБ и ИАЦ. В личинках мух обнаружен генетический материал возбудителей ИББ, ИБК, НБ, ИАЦ и РЕО. Вероятно, что вирусы-возбудители ИББ, ИБК и НБ обнаруживаются в биоматериале от жуков-чернотелок вследствие использования вакцинных препаратов на основе живых штаммов вирусов при вакцинации через систему поения. Согласно литературным данным, одним из основных путей передачи вирусов-возбудителей ИАЦ и реовирусной инфекции является вертикальный путь, а наиболее подвержены этим инфекциям цыплята в молодом возрасте; активное выделение вирусов от инфицированной птицы

Таблица 1. Выявление генетического материала возбудителей вирусных болезней кур в жуках-чернотелках, отловленных в корпусах для содержания птицы

№ корп.	Кол-во проб	Количество положительных проб по:				
		ИББ	ИБК	НБ	РЕО	ИАЦ
1	4	0	0	0	0	0
2	10	0	10	4	0	7
3	15	8	10	3	0	2
4	21	0	0	1	0	0
5	16	0	0	6	0	1

Таблица 2. Выявление генетического материала возбудителей вирусных болезней кур в личинках мух, собранных в корпусах для содержания птицы

№ корп.	Кол-во проб	Количество положительных проб по:				
		ИББ	ИБК	НБ	РЕО	ИАЦ
1	12	4	10	3	4	11
2	14	0	10	1	0	6
3	12	0	0	10	0	1

идет с пометом [6]. При этом при плановом серологическом мониторинге родительских стад время от времени отмечался неоднородный иммунный ответ к ИАЦ, что может свидетельствовать о циркуляции возбудителя среди птицы.

В литературе имеются данные о выявлении в жуках-чернотелках, обитающих в корпусах содержания птицы, возбудителей различных инфекционных вирусных заболеваний [7]. Имеются данные о том, что в экспериментальных условиях можно выделять вирус ИББ от взрослых особей жуков-чернотелок в срок до 14 суток [8], а также данные о возможной передаче коронавирусов индеек при экспериментальном скармливании жукам инфекционного материала [9]. Сообщалось о моделировании переноса вируса НБ комнатными мухами, а также о выявлении этого вируса и вируса гриппа птиц в мухах, отловленных вблизи мест содержания птицы [10,11]. Методом ПЦР в мухах, выловленных вблизи птицеводческих предприятий, неблагополучных по гриппу птиц, выявляли генетический материал возбудителя [12]. Во всех указанных источниках вирусы обнаруживаются либо на поверхности тела насекомых, либо ограниченное время выделяются из внутренних органов.

Метод ПЦР является более чувствительным для выявления вирусов, чем другие вирусологические методы. Проведенные нами исследования свидетельствуют о персистенции вирусов-возбудителей инфекционных заболеваний птиц в популяциях, ограниченных одним помещением. Выявление генетического материала в насекомых может дать дополнительные данные об общей эпизоотической ситуации. Также дальнейшего изучения требует вопрос об особенностях взаимодействия отдельных возбудителей с определенными видами насекомых.

Выводы. При проведении исследований разработаны оригинальные ловушки, позволяющие эффективно отлавливать жуков-чернотелок (*Alphitobius diaperinus*) для проведения вирусологического мониторинга в помещениях птицеводческих предприятий. Установлено, что генетический материал вирусов возбудителей ИББ, ИБК, НБ, ИАЦ и реовирусной инфекции выявляется в личинках комнатных мух и имаго жуков-чернотелок. Таким образом, существует вероятность наличия трансмиссивного механизма передачи вирусных болезней птиц, что нужно учитывать при подготовке помещений перед посадкой птицы.

Литература / References

1. Алексеев, А.Ю. Анализ миграций птиц водного и околоводного комплекса на территории Республики Дагестан и обоснование выбора ключевых точек мониторинга гриппа типа А / А.Ю. Алексеев, Т.А. Мурашкина, Д.М. Джамалутдинов, С.С. Абдуллаев, Х.А. Ахмедрабаданов, К.А. Шаршов // Юг России: экология, развитие. - 2019. - Т. 14. - №1. - С. 137-149. doi: 10.18470/1992-1098-2019-1-137-149
2. Носова, О.Э. Зоофильные мухи животноводческих ферм на территории Салаирской зоны Алтайского края / О.Э. Носова // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. - 2014. - №15. - С. 204-206.
3. Adams, J. Vector abatement plan – darkling beetles // CAMM Poultry Manual. - 2003. - Chpt. 10c. - P. 635-647.
4. De las Casas, E. Infection and quantitative recovery of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* from within the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) / E. De las Casas, B.S. Pomeroy, P.K. Harein // Poult. Sci. - 1968. - V. 47. - No 6. - P. 1871-1875. doi: 10.3382/ps.0471871
5. Safrit, R.D. Evaluations of sampling methods for darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) in the litter of turkey and broiler houses / R.D. Safrit, R.C. Axtell // Poult. Sci. - 1984. - V. 63. - No 12. - P. 2368-2375. doi: 10.3382/ps.0632368

6. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц / под ред. Калнека Б.У., Барнса Х.Дж., Биэрда Ч.У., Макдугалла Л.Р., Сэйфа И.М. - Пер. с англ. - М. Аквариум, 2003. - 1231 с.
7. Goodwin, M.A. Transmission of Eimeria, viruses, and bacteria to chicks: darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens / M.A. Goodwin, W.D. Waltman // J. Appl. Poult. Res. - 1996. - V. 5. - No 1. - P. 51-55. doi: 10.1093/japr/5.1.51
8. McAllister, J.C. Isolation of infectious bursal disease virus from the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) / J.C. McAllister, C.D. Steelman, L.A. Newberry, J.K. Skeeles // Poult. Sci. - 1995. - V. 74. - No 1. - P. 45-49. doi: 10.3382/ps.0740045
9. Watson, D.W. Limited transmission of turkey coronavirus in young turkeys by adult *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) / D.W. Watson, J.S. Guy, S.M. Stringham // J. Med. Entomol. - 2000. - V. 37. - No 3. - P. 480-483. doi: 10.1093/jmedent/37.3.480
10. Watson, D.W. Experimental evaluation of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) as a vector of Newcastle disease virus / D.W. Watson, E.L. Niño, K. Rochon, S. Denning, L. Smith, J.S. Guy // J. Med. Entomol. - 2007. - V. 44. - No 4. - P. 666-671. doi: 10.1093/jmedent/44.4.666
11. Chakrabarti, S. Detection and isolation of exotic Newcastle disease virus from field-collected flies / S. Chakrabarti, D.J. King, C. Afonso, D. Swayne, C.J. Cardona, D.R. Kuney, A.C. Gerry // J. Med. Entomol. - 2007. - V. 44. - No 5. - P. 840-844. doi: 10.1093/jmedent/44.5.840
12. Wuryastuti, H. Molecular identification of avian influenza A virus in house flies *(Musca domestica* L.) collected from different poultry farms in Indonesia / H. Wuryastuti, R. Wasito // Indones. J. Vet. Sci. - 2013. - V. 31. - No 1. - P. 1-7. doi: 10.22146/JSV.2623

Сведения об авторах:

Леонов С.В.: старший научный сотрудник; 348-39-31@mail.ru. **Юшков Ю.Г.:** доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник; 3486552@mail.ru. **Городов В.С.:** кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; marker@list.ru. **Тареева Е.А.:** младший научный сотрудник; lavikanda@mail.ru.

Статья поступила в редакцию 17.01.2024; одобрена после рецензирования 05.02.2024; принята к публикации 15.02.2024.

Research article

Identification of Causative Agents of Chicken Infectious Viral Diseases in Synanthropic Insects Inhabiting Poultry Houses

Sergey V. Leonov, Yury G. Yushkov, Vladimir S. Gorodov, Ekaterina A. Tareeva

Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies of Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Province

Abstract. *Synanthropic insects inhabiting poultry houses can be carriers of viral diseases of chickens. The experiments were aimed at the development of methods for collecting and trapping of insects in commercial poultry houses and identification of the causative agents of viral infectious diseases of chicken in collected insects using a polymerase chain reaction (PCR) method. Traps of our design and manufacture were used to capture darkling beetles (Alphitobius diaperinus) in the houses with floor-housed broilers The collection of housefly (Musca domestica) larvae was carried out in the houses with cage-housed broilers since 35 days of broilers' age. PCR analyses of the samples of the collected insects (66 samples from the beetles and 38 samples from housefly laravae) was performed to identify the genetic material of viruses of the following infectious diseases of chicken: RNA of viruses of infectious bursal disease, chicken infectious bronchitis, Newcastle disease, chicken reoviral infection, and DNA of virus of chicken infectious anemia. In the flies' larvae all these viruses was found, in the beetles all except the reovirus. The conclusions were made on the effectiveness of the developed method and trap for the collection of darkling beetles, and on the possibility of the transmission of different viral poultry diseases by synanthropic insects which should be taken into account in the programs of the sanitation of poultry houses prior to the housing.*

Keywords: *darkling beetle (Alphitobius diaperinus), housefly (Musca domestica), viral chicken diseases, trap for capture of beetles, poultry houses.*

For Citation: *Leonov S.V., Yushkov Y.G., Gorodov V.S., Tareeva E.A. (2024) Identification of causative agents of chicken infectious viral diseases in synanthropic insects inhabiting poultry houses. Ptitsevodstvo, 73(3): 53-58. (in Russ.)*
doi: 10.33845/0033-3239-2024-73-3-53-58

(For references see above)

Authors:

Leonov S.V.: Senior Research Officer; 348-39-31@mail.ru. **Yushkov Y.G.:** Dr. of Agric. Sci., Chief Research Officer; 3486552@mail.ru. **Gorodov V.S.:** Cand. of Biol. Sci., Senior Research Officer; marker@list.ru. **Tareeva E.A.:** Junior Research Officer; lavikanda@mail.ru.

Submitted 17.01.2024; revised 05.02.2024; accepted 15.02.2024.

© Леонов С.В., Юшков Ю.Г., Городов В.С., Тареева Е.А., 2024

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ПТИЦЕВОДСТВА» И РОССИЙСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ ВСЕМИРНОЙ НАУЧНОЙ АССОЦИАЦИИ ПО ПТИЦЕВОДСТВУ (НП «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПО ПТИЦЕВОДСТВУ»)

Приглашают принять участие в XXI Международной конференции Российского отделения ВНАП (НП «Научный центр по птицеводству») — **«Мировое и российское птицеводство: динамика и перспективы развития — научные разработки по генетике и селекции сельскохозяйственной птицы, кормлению, инновационным технологиям производства и переработки яиц и мяса, ветеринарии, экономики отрасли»**, которая будет проходить **23–25 сентября 2024 г.** на базе ФНЦ «ВНИТИП» (г. Сергиев Посад, Московская обл.).

Во время проведения конференции будут работать секции:
- Генетика и селекция сельскохозяйственной птицы.
- Кормление сельскохозяйственной птицы.
- Технология производства яиц и мяса птицы.
- Технология переработки мяса птицы и яиц.
- Ветеринарно-санитарные проблемы в птицеводстве.
- Экономические аспекты развития отрасли.

Для представителей научных учреждений и учебных заведений, руководителей и специалистов птицеводческих хозяйств участие в конференции бесплатное.

Проживание и питание оплачиваются всеми участниками самостоятельно.
По результатам конференции будет издан сборник материалов. Для публикации в сборнике трудов конференции просим подготовить **тезисы докладов** и направить в оргкомитет.
Тезисы принимаются до **5 апреля 2024 г.** по e-mail: vasilievatv@gmail.com
Требования к тезисам размещены на сайте www.vnitip.ru
Компаниям, работающим в птицеводческой сфере, предлагаем рассказать о своей продукции и услугах, выступив в качестве спонсоров мероприятия.

По вопросам участия обращайтесь в Российское отделение ВНАП:
Васильева Татьяна Владимировна
тел./факс: +7 903-158-26-42 (моб.); e-mail: vasilievatv@gmail.com
Предварительная **регистрация** обязательна. Окончание регистрации: **25.08.2024 г.**
Бланк регистрации размещен на сайте www.vnitip.ru
По вопросам проживания участники конференции могут обращаться во ВНИТИП:
Тел.: +7(496) 549-95-75; факс: +7(496) 551-21-38; e-mail: vnitip@vnitip.ru

Будем рады Вашему участию!

Президент, академик РАН **В.И. Фисинин**