

PROPHYLACTIC TEST OF SULFAMONOMETHOXINE AGAINST
THE CHICKEN LEUCOCYTOZONOSIS*

การใช้ยาซัลฟาโมโนเมท็อกซีนเพื่อป้องกันโรค

ลิวโคไซโตซูโนซิสในไก่ไข่

Manop Muangyai¹

มานพ ม่วงใหญ่

Vorapee Suwatanaviroj²

วรบี่ สุวัฒน์วิโรจน์

Sampas Charusarn³

สัมภาษณ์ จารุสาร

¹ Division of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Chulalongkorn
University, Bangkok Metropolis 10500, Thailand

หน่วยปรสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10500

² Section of Poultry Disease, Department of Livestock Development,
Bangkok Metropolis 10400, Thailand

งานโรคสัตว์ปีก กรมปศุสัตว์ กทม. 10400

³ C. Pokphand Enterprise Co. Ltd., Bangkok Metropolis 10120 Thailand

บริษัท เจริญโภคภัณฑ์ จำกัด กทม. 10120

บทคัดย่อ

ได้ทำการทดลองใช้ยาซัลฟาโมโนเมท็อกซีนเพื่อป้องกันโรคลิวโคไซโตซูโนซิสในฟาร์ม

ไก่ไข่ฟาร์มหนึ่ง ซึ่งอยู่ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยแบ่งลูกไก่พันธุ์ไข่ออกเป็น 3
กลุ่ม ๆ ละ 25 ตัว กลุ่มแรกให้อาหารตามปกติ กลุ่มที่สองและกลุ่มที่สามผสมยาในขนาด 30 ส่วน
และ 50 ส่วนต่ออาหารหนึ่งล้านส่วน เมื่อลูกไก่อายุได้ 1 เดือนเริ่มชั่งน้ำหนัก, เจาะเลือดเพื่อหา

* This investigation was supported in part by Daiichi Seiyaku Co. Ltd. and C. Pokphand
Enterprise Co. Ltd. Thailand

อุบัติเหตุการของโรคโลหิตโคไซโตซูโนซิสทางวิทยาเซรุ่ม โดยวิธีดับเบิล เจล ดิฟฟิวชัน และทำฟิล์ม เลือดบางแล้วย้อมด้วยสียิมซา เพื่อตรวจหาระยะมีเพศของปรสิต การทดสอบดังกล่าวนี้ทำเดือนละ ครั้ง เป็นระยะเวลา 16 เดือน เมื่อไก่เริ่มไข่จากบันทึกจำนวนไข่ของไก่แต่ละตัวทุกวันตลอดการ ทดลอง พบว่าเปอร์เซ็นต์การไข่ของไก่กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 เป็น 53.25, 55.65 และ 59.31 ตาม ลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่น้ำหนักของไก่ทั้ง 3 กลุ่มเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ไม่มีผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด ผลการตรวจทางวิทยาเซรุ่มให้ผลบวก ๙ รายในกลุ่ม แรก และ 4 รายในกลุ่มที่ 2 สำหรับระยะมีเพศของปรสิตนั้นตรวจพบเพียง 4 รายในกลุ่มที่ไม่ให้ ยา จะเห็นได้ว่ายาซัลฟาโมโนเมท็อกซีน ขนาด 50 ส่วนในอาหารล้วนส่วนสามารถป้องกันการติด โรคตามธรรมชาติได้อย่างดีเยี่ยม แต่ยาขนาด 30 ส่วนในอาหารล้วนส่วนไม่สามารถป้องกันโรคได้ อย่างสมบูรณ์

Abstract

Chemo-prophylactic trial of Sulfamonomethoxine for chicken leucocytozoonosis in a layer farm was performed. The chicken were divided into 3 groups of 25 each. Group I was the non-medicated control, group II and III, 30 and 50 ppm of Sulfamonomethoxine were added into the basal ration for 16 months of the experimentation. The weight gain, blood sample collection for double gel diffusion technique and stained blood smear examination were carried out once a month. The individual egg production was daily recorded. The percentage of egg production were 53.25, 55.65 and 59.31 in group I, II and III respectively and the differences were statistical significant ($P < 0.01$) but there were no different for the final weight gain of chicks among groups at the end of the experiment. The serological positive reaction was demonstrated in 9 chicks of the control group, and 4 chicks in 30 ppm medicated group. The sexual stage of the parasite was found in 4 chicks of non-medicated group. At the dose of 50 ppm, Sulfamonomethoxine added to

the basal ration gave complete protection against chicken leucocytozoonosis while 30 ppm of this drug was partially effective.

Introduction

Leucocytozoonosis had been reported in Thailand for many years. Campbell (1954) reported "Bangkok Haemorrhagic Disease of Chicken" with uncertain aetiology but it was later regarded by scientists as leucocytozoonosis. Srihakim et al (1975) found the outbreak in 5-12 month-old caged chicken with 25% mortality in Khon Kaen Province, the north-east of Thailand. The disease was characterized by listless, emaciation, weakness, diarrhea and haemoptysis. Focal haemorrhages were found in many visceral organs, but the gamont in blood smear was not demonstrated. Muangyai and Vitayanatpaisal (1977) had surveyed the incidence of the parasite and was first found the gamont of *Leucocytozoon caulleryi* from a chicken blood smear at Si-Khiu District, Nakhon Ratchasima Province. Suwatanaviroj and Muangyai (1979) had performed epizootiological surveillance study by serological diagnosis (double gel diffusion method) in several layer farms in the central area of Thailand and revealed 34.29% (72/210) of positive reaction to the antigen of *L. caulleryi*.

The prophylaxis of chicken leucocytozoonosis may be created in several ways. The prevention of the chicken from the insect vector is not practicable because of the small size of *Culicoides* spp., they can easily pass through the net. The adult insect has the habit of resting on the house, on the surface or in the cleft of the wall before and after sucking the chicken blood. Thus, spraying of insecticides, i.e. pyrethroid, carbamate and organo-phosphorous compounds, is one of the effective method for killing adult insect vectors. The most accurate method to get rid of the vector is to prevent the reproduction of *Culicoides* spp. by eliminating the breeding places. This method is

not feasible since the larvae of *C. arakawae*, the important vector, live in all kind of water reservoir especially in the rice fields which cover a considerably vast area (Morii, 1978).

The prevention by the use of drugs either in feeds or water is the most conventional method during the insect vector season. The feed additives considered effective for the prevention of leucocytozoonosis at the present are Clopidol (125-250 ppm), Sulfaquinoxaline (50 ppm), Sulfadimethoxine (50 ppm), Sulfamonomethoxine (25-50 ppm), and Pyrimethamine mix with Sulfadimethoxine or Sulfamonomethoxine (Akiba, 1968; Shanta et al 1973; Manuel, 1977; Morii, 1978).

The purposes of this study were to determine the prophylactic dose of Sulfamonomethoxine against the natural infection of chicken leucocytozoonosis in a layer farm by serological method and by the determination of the sexual stage of the parasite from chicken blood smear; and to study the effects of Sulfamonomethoxine on weight gain and egg production.

Materials and Methods

The experiment was performed in a private farm, in Muang District, Chachoengsao Province. This farm is locating in the most dense laying chicken raising area of the country, surrounded by the rice fields and had high incidence of the disease from the previous surveillance (Suwatanaviroj and Muangyai, 1977).

One-day-old chicks of layer breed were purchased from a hatchery in Bangkok. The chicks were kept inside a brooder house on the ground under the electric lighting. All birds were vaccinated against Newcastle Disease, Fowl pox and Infectious bronchitis. The chicks were divided into 3 groups of 25 each when they were one month old. Group I, the non-medicated control, was fed with the proper feed, group II and III,

the feed were added with Sulfamonomethoxine* 30 ppm (0.003%) and 50 ppm (0.005%) respectively from January 1980 to April 1981. Each group was kept separately in a chicken house for 4 months and then transferred into the individual battery cage before the beginning of the laying period. All birds were weighed, blood sample collection and thin blood film were conducted once a month. The sera were obtained for serological examination by double gel immuno-diffusion technique (Morii, 1972; 1974). The thin blood films were fixed in methanol and stained with Giemsa and examined atleast 100 microscopic fields by 1000 X. The egg production from individual hen was daily recorded. The final weight gain and the percentage of egg production among groups were statistical analysed.

Results

Weight gain: The average body weight of one-month-old chicks in group I, II and III were 0.36, 0.37 and 0.36 kg. (n in each group = 25) and the weight at the end of experiment were 1.87 (n = 24), 1.94 (n = 23) and 1.88 (n = 24) kg. respectively (Table 1). These were not significant different by the analysis of variance.

Egg production: The hens begins to lay eggs on the fifth month of age. The total egg production of group I, II and III were 4680, 4834 and 5251. The mean percentages of egg production were 53.25, 55.65 and 59.31 respectively for 12 months of egg laying period (Table 1 and Fig. 1). It was distinguishly lower in the non-medicated control group than the others, and the differences were statistically significant by analysis of variance ($P < 0.01$).

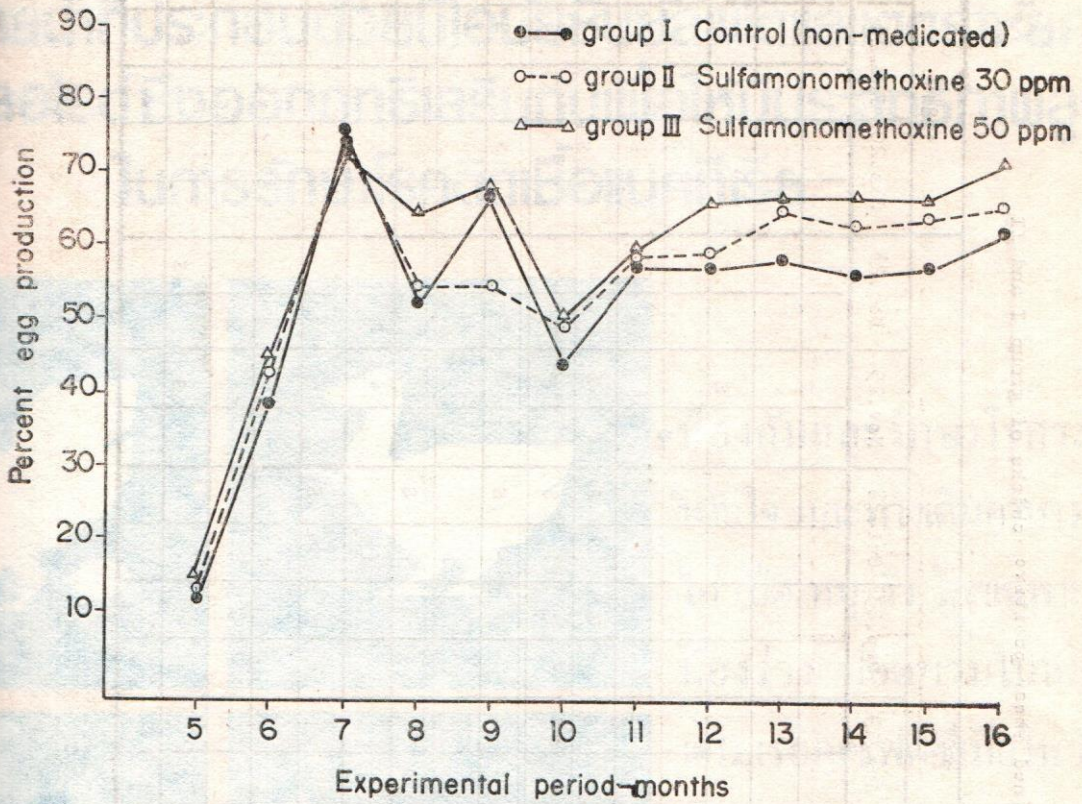
* Daimeton Powder, Daiichi Seiyaku Co. Ltd., Japan

Table 1. weight gain and egg production

Year-Month-Date	1980												1981			Remarks	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9(a)	10	11(b)	12	13(c)	14	15		16
Groups	Jan22 -Feb26	Jan23 -Feb26	Feb27 -Mar18	Mar19 -Apr24	Apr25 -May20	May21 -Jun24	Jun25 -Jul22	Jul23 -Aug19	Aug20 -Sep23	Sep24 -Oct28	Oct29 -Nov25	Nov26 -Dec23	Dec24 -Jan20	Jan21 -Feb23	Feb24 -Mar16	Mar17 -Apr20	
Body weight (\bar{x}) Kg.																	
I Control (non-medicated)	0.36	0.83	1.04	1.45	1.57	1.76	1.75	1.80	1.82	1.90	1.92	2.20	2.05	1.97	1.95	1.87	
II Sulfamonomethoxine 30 ppm	0.37	0.90	1.06	1.47	1.65	1.77	1.75	1.78	1.81	1.88	1.99	2.11	2.09	1.98	2.02	1.94	
III Sulfamonomethoxine 50 ppm	0.36	0.90	1.06	1.47	1.58	1.73	1.73	1.76	1.79	1.88	1.89	1.98	2.01	1.93	1.91	1.86	
<u>Total Egg Production in Group</u>																	
I Control (non-medicated)					76	335	529	365	562	366	365	386	396	463	292	525	\bar{x} = 4680
II Sulfamonomethoxine 30 ppm					80	374	522	384	481	433	395	400	419	494	313	555	\bar{x} = 4834
III Sulfamonomethoxine 50 ppm					93	386	520	452	587	441	399	415	446	544	336	602	\bar{x} = 5251
<u>Egg Production (%) (d)</u>																	
I Control (non-medicated)					11.69	38.29	75.57	52.14	66.90	43.57	57.29	57.44	58.93	56.74	57.94	62.50	\bar{x} = 53.25
II Sulfamonomethoxine 30 ppm					12.31	42.74	74.57	54.86	54.97	49.49	58.78	59.52	65.06	63.17	64.80	66.46	\bar{x} = 55.65
III Sulfamonomethoxine 50 ppm					14.31	44.11	74.29	64.57	67.09	50.10	59.38	66.22	66.37	66.67	66.67	71.66	\bar{x} = 59.31

(a) One hen in group I was died of other causes.
 (b) One hen in group II and one in group III were died of other causes.
 (c) One hen in group II was died of other causes.
 (d) Egg production rate= No. of egg production X 100
 No. of days X No. of chicken

Fig. 1 Percent egg production



Serology test and blood smear examination: The serological positive reaction was demonstrated in 9 chicks of group I, and 4 chicks in group II but none was found in group III. Some of the positive chicks gave the reaction continuously for several months (Table 2). The peaks of infection indicated at October and March–April (Fig. 2).

From blood smear examination, the gamont stage of *Leucocytozoon caulleryi* could be demonstrated only in 4 birds in the non-medicated control group and most of them the sexual stage of the parasite appeared only once during the examination period.

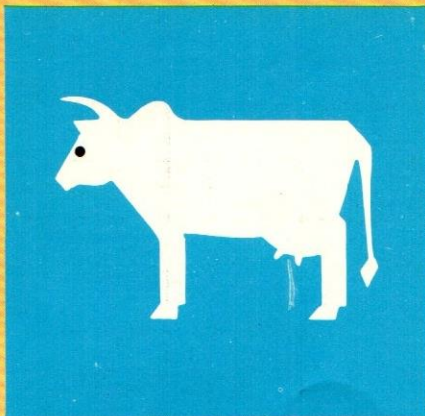
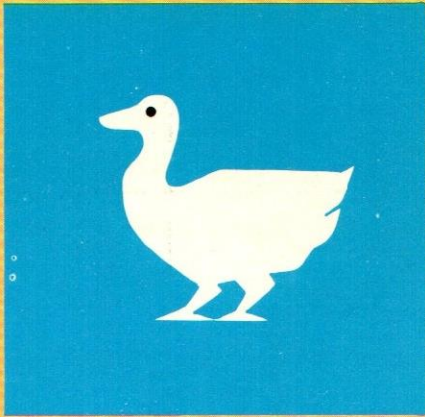
Table 2. Immuno-diffusion test and thin blood stained smear positive chicks of group I and II

chick no.	1980							1981						
	Jan.22	Apr.24	May 20	Jun.24	Jul.22	Aug.19	Sep.23	Oct.28	Nov.25	Dec.28	Jan.20	Feb.23	Mar.16	Apr.20
group I														
A5					G S									
A7									S					
A12								S						S
A13				G	S								S	S
A14						S	S	S			S	S	S	S
A15						G S	S	S			S	S	S	S
A21						S	S	S	S		S	S	S	S
A22						S							S	
A25							S	S						
group II														
B6								S						
B9													S	
B18														
B19									S			S		

G = gamont found
 S = serology positive

พีไอ - คลอ

ละลายน้ำที่ประกอบด้วยนิโอมัยซินซัลเฟตและเตตราไซคลิน
คลอไรด์ ซึ่งออกฤทธิ์เสริมกันเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูง
ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย



- ป้องกันและรักษาโรกระบบ
หายใจ และทางเดินอาหารของ
ไก่ เป็ด หมู วัว โดยเฉพาะโรค
ท้องร่วง ปอดบวมในหมู –
เฮโมเรียกเซฟติซีเมียในวัว
- ป้องกันและรักษาโรคหวัด
ซีอาร์ดี ท้องเสีย โรคซัลโม-
เนลล่าในไก่

ผลิตภัณฑ์ของ P.V.U. INC. ประเทศแคนาดา



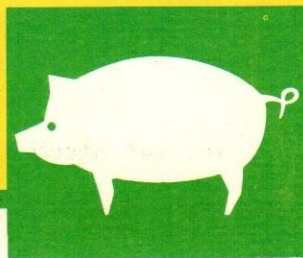
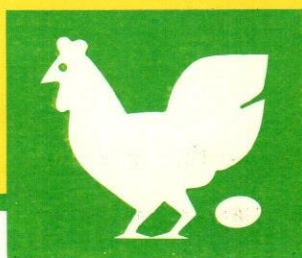
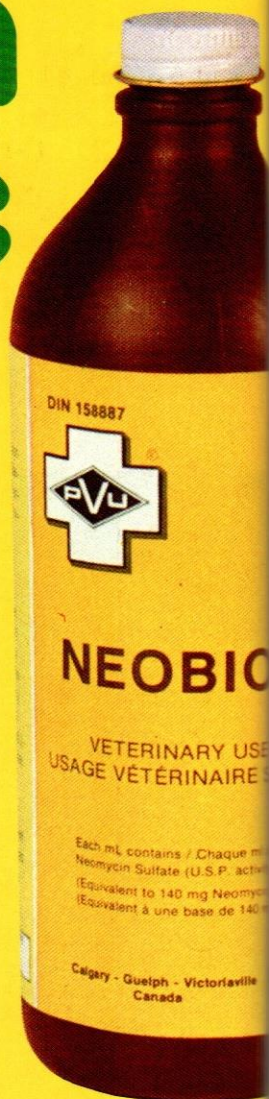
ผู้แทนจำหน่ายแต่ผู้เดียวในประเทศไทย
บริษัท เซนทากิ จำกัด
7/3 ถนนพหลโยธิน กม.ที่ 33 รังสิต-กรุงเทพฯ จ.ปทุมธานี
โทร. 5168811-5, 5168821-5 โทรเลขย่อ "เซนทากิ" รังสิต

* สำหรับผู้ประกอบการ

นีโอไบโอติก NEOBIOTIC

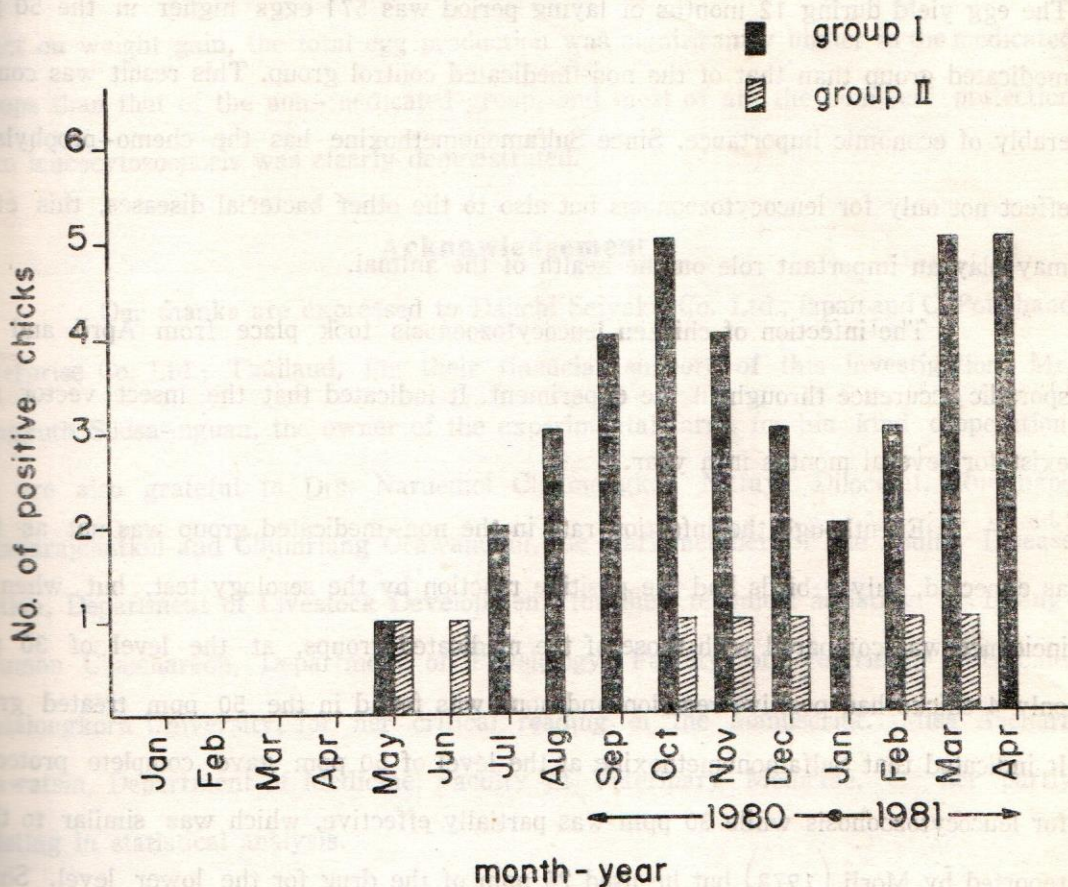
1 ซีซี. ประกอบด้วย
นีโอมัยซินซัลเฟต 200 มก.

- มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันและรักษาโรกระบบลำไส้
จ้ำขาว ท้องเสียในไก่ เป็ด สุกร
วัว ควาย แพะ แกะ



ผู้แทนจำหน่ายและผู้เชี่ยวชาญในประเทศไทย
บริษัท เซเนทาโก้ จำกัด
7/3 ถนนพหลโยธิน กม.ที่ 33 รังสิต-กรุงเทพฯ จ.ปทุมธานี
โทร. 5168811-5, 5168821-5 โทรเลขย่อ "เซเนทาโก้"

Fig. 2 Distribution and accumulation of serological positive chicks in group I and II



Discussion

Starting at the first month of age, until the termination of the trial (16 months), weight gain of the chicks in the medicated groups (1.94 and 1.88 kg.) appeared to be a little higher than that of the control group (1.87 kg.), however, the differences were not statistically significant. These were similar to those reported by Manuel (1977). It indicated that Sulfamonomethoxine at the level of 30 and 50 ppm given in a long period had no detrimental effect on the growth of the birds.

The differences on egg production among groups were statistically significant. The egg yield during 12 months of laying period was 571 eggs higher in the 50 ppm medicated group than that of the non-medicated control group. This result was considerably of economic importance. Since Sulfamonomethoxine has the chemo-prophylactic effect not only for leucocytozoonosis but also to the other bacterial diseases, this effect may play an important role on the health of the animal.

The infection of chicken leucocytozoonosis took place from April and had sporadic occurrence throughout the experiment. It indicated that the insect vector may exist for several months in a year.

Eventhough the infection rate in the non-medicated group was not as high as expected, only 9 birds had the positive reaction by the serology test, but when the incidence was compared with those of the medicated groups, at the level of 30 ppm only 4 chicks had positive reaction and none was found in the 50 ppm treated group. It indicated that Sulfamonomethoxine at the level of 50 ppm gave complete protection for leucocytozoonosis while 30 ppm was partially effective, which was similar to those reported by Morii (1978) but he used 25 ppm of the drug for the lower level. Shanta et al (1973) tried to find the minimal effective level of the drug, he could not find the sexual stage of the parasite when the drug was given as low as 5 ppm, however Manuel (1977) could find the parasite in low number even when 50 ppm of Sulfamonomethoxine was used as the feed additive. It was noticable that in some chicks of the non-medicated control group, the positive reaction existed as long as 9 months but some birds showed intermittent positive reactors. This fluctuation of the antibody level may be caused by the reinfection, since Morii (1978) reported that the antibody produced by artificial sporozoite inoculation persisted as long as 81 days.

From this trial, it can be concluded that Sulfamonomethoxine at the dose of 50 ppm added to the basal ration from 1 month of age did not have any detrimental effect on weight gain, the total egg production was significantly higher in the medicated groups than that of the non-medicated group, and most of all, the complete protection from leucocytozoonosis was clearly demonstrated.

Acknowledgement

Our thanks are expressed to Daiichi Seiyaku Co. Ltd., Japan and C. Pokphand Enterprise Co. Ltd., Thailand, for their financial support of this investigation. Mr. Yongyuth Sudsa-nguan, the owner of the experimental farm, for his kind cooperation. We are also grateful to Drs. Naruemol Chaimongkol, Nittaya Dilockiat, Rungnapa Ratanarajchatkul and Chumriang Orawanukul, the staff members of The Poultry Disease Section, Department of Livestock Development, for their technical assisting. Dr. Duangnarumon Chaichareon, Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, for her critical reading of the manuscript. Miss Aschara Dhawatsin, Department of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, for her partly assisting in statistical analysis.

References

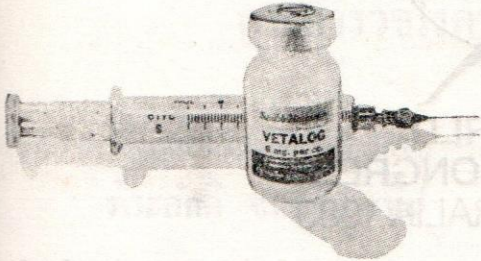
- Akiba, L. 1968. Preventive measures against the latest prevalence of leucocytozoonosis in chicken. *Bull. Soc. Res. Fowl. Dis.* 4 (2): 25-28.
- Campbell, J.G. 1954. Bangkok Haemorrhagic Disease of Chickens: An unusual condition associated with a organism of uncertain taxonomy. *J. Path. Bact.* 68:423-429.
- Manuel, M.F. 1977. Studies of the control of leucocytozoonosis in chickens in the Philippines. Published for the office of the president of the university by The University of the Philippines Press. p. 1-18.

- Morii, T. 1972. Presence of antigen and antibodies in the sera of chickens infected with *Akiba caulleryi*. National Institute of Animal Health Quarterly 12:161-167.
- Morii, T. 1974. Characterization of antigens and specific antibodies in the sera of chickens infected with *Akiba caulleryi*. National Institute of Animals Health Quarterly 14:174-181.
- Morii, T. 1978. Chicken leucocytozoonosis and its prevention. J. Jap. Soc. Poult. Dis. 14(1):1-32.
- Muangyai, M. and S. Vitayanatpaisal 1977. *Leucocytozoon (Akiba) caulleryi* in Thailand. Thai J. Vet. Med. 7(2):166-170.
- Shanta, C.S., W.S. Pun, L.C. Hoong and K.K. Heng 1973. Studies on leucocytozoonosis. I. Sulfamonomethoxine as a prophylaxis against infection with *Leucocytozoon caulleryi*. Kajian Veterinaire 5(1):11-15.
- Srihakim, S., C. Ratanasetakul and P. Krainil 1975. Pathological study of leucocytozoonosis in chickens. Thai J. Vet. Med. 5(3):746-760.
- Suwatanaviroj, V. and M. Muangyai 1979. Immuno-serodiagnosis of chicken leucocytozoonosis in Thailand. Thai J. Vet. Med. 9(3):156-164.



เวตาล็อก VETALOG®

SQUIBB TRIAMCINOLONE ACETONIDE AQUEOUS SUSPENSION



คอร์ติโคสเตียรอยด์ ชนิดฉีด สำหรับสัตว์เลี้ยงทุกชนิด

- ลดการอักเสบ การแพ้ คีโตซีส บั๊อักเสบ
- โรคผิวหนัง
- เสริมการรักษาพร้อมกับยาอื่น
- ภาวะเครียด - หลังผ่าตัด

เวตาล็อก

ออกฤทธิ์เร็ว

มีฤทธิ์แรงกว่า

- ไฮโดรคอร์ติโซน 40 เท่า
- เพรดนิโซโลน 10 เท่า
(ในการลดอักเสบ)

และผลต้านกลูโคเจนิก
แรงกว่าไฮโดรคอร์ติโซน 90 เท่า

ออกฤทธิ์ต่อเนื่องได้มากกว่า

ปลอดภัย

ไม่มีผลต่อระดับเกลือแร่ ไม่ทำให้เกิดการบวมน้ำ ผลข้างเคียงทำไปต่ำ

สควิบบ SQUIBB

บริษัท สควิบบ ฟาร์อีสต์ จำกัด

ชั้น 3 อาคารร่วมฤดี 566 ถนนเพลินจิต กรุงเทพฯ

(โทร. 2524116-8)



XXII WORLD
VETERINARY CONGRESS
PERTH, AUSTRALIA 1983

ขอเชิญร่วมงานประชุมวิชาการสัตวแพทย์ทั่วโลก ครั้งที่ 22
ณ เมืองเพอร์ท ประเทศออสเตรเลีย

21-26 สิงหาคม 2526

บริษัท เมอร์ค แอนด์โก อิงค์ สหรัฐอเมริกา
ผู้ปล้ำกัในการจัดงาน
เจ้าของผลิตภัณฑ์

AMPROL 25%

AMPROL Plus

AMPROL 20%

NICRAZIN

DUOCOXIN

S.Q. 25%

PROSTREP

FLOXOID Fortified

RIDZOL

PORCAM

RANIDE

THIBENZOLE

MSD AGVET

บริษัท เมอร์ค ซาร์ฟ แอนด์ โคห์ม (ประเทศไทย) จำกัด

126 สุขุมวิท (กม. 23) สมุทรปราการ โทร. 3941421-2

เครื่องของ

ผู้แทนจำหน่าย

บริษัท เมอร์ค แอนด์โก อิงค์ ราเวย์ นิวเจอร์ซีย์ สหรัฐอเมริกา บริษัท บี.เอ็ล.เอ็ช. เทร์คดิง จำกัด

เจ้าของช่องทางการค้า

27/2-3 ถนนวิทย์ กรุงเทพฯ 10500 โทร. 2518660-3