

гнуtych kontrolnej infekcji, i przy pomocy pasywnego ochronnego testu na chomjach. Było odkrywane, że 1/16 dozy (na 1 kg w.t.), zabezpieczającej chomjaków od klinicznego leptospirozy, chroniła chomjaków od 10 LD₁₀₀ wirulentnego szczepu serotypu icterohaemorrhagiae. W surowatkach chomjaków, niewrażliwych na infekcję, tytuły aglutynin po challenge-ach były niższe niż w surowatkach kontrolnych chomjaków.

Nowakowski J. — **Passive immunity of dogs and hamsters in case of experimental infection with *Leptospira interrogans*, serotype icterohaemorrhagiae.**

The value of the protective component of *Leptospira* in the globulin preparation Stagloban SHL and in

the experimental product C.3 against a virulent strain of *Leptospira icterohaemorrhagiae* was examined. The both drugs given at curative doses protected dogs against clinical form of leptospirosis. But the above doses of the drugs did not protect the dogs against infection of kidneys; only twice higher doses proved to be effective. The correlation was estimated between the protective value of sera, determined directly on dogs experimentally infected and the data obtained by means of protective test on hamsters. It was found that the 1/16 dose per 1 kg of body weight protecting dogs against clinical form of leptospirosis was effective against 10 LD₁₀₀ of a virulent strain of *Leptospira icterohaemorrhagiae* for hamsters. The level of agglutinins in the sera of dogs after challenge was lower than that in control animals.

MIROSLAWA ROŻAŃSKA, FIODOR KIRZAJEW

Przydatność odczynu precypitacji w żelu agarowym do wykrywania kur zakażonych zarazkami *S. pullorum*

Z Zakładu Badania Chorób Drobiu Instytutu Weterynarii w Puławach

Z Zakładu Mikrobiologii Wszeczwiązkowego Naukowo-Badawczego Instytutu Chorób Ptaków w Leningradzie

W zwalczaniu pulorozy zasadnicze znaczenie mają badania serologiczne, polegające na wykrywaniu swoistych przeciwciał w surowicy krwi kur zakażonych zarazkami *S. pullorum*. Powszechnie stosowaną metodą przyżyciowego wykrywania nosicieli zarazków białej biegunki piskląt jest odczyn zlepty ze świeżą kroplą krwi. Jednak odczyn ten jak wskazują doniesienia szeregu autorów (2, 3, 4, 5), daje niekiedy reakcje nieswoiste (tzw. „non-pullorum”), nie zawsze możliwe do odróżnienia, na podstawie charakteru zleptów, od aglutynacji swoistej. Aoki i wsp. (1) do wykrywania swoistych przeciwciał anty — *S. pullorum* w surowicy ptaków zakażonych, zastosowali odczyn precypitacji w żelu agarowym. Autorzy ci wykazali, że test precypitacji pozwala na wyeliminowanie ptaków wykazujących reakcje „non-pullorum” w odczynie aglutynacji płytowej z pełną krwią.

Założeniem niniejszej pracy było opracowanie antygeny do odczynu precypitacji w żelu agarowym, przebadanie czułości tego testu na ptakach sztucznie zakażonych oraz prześledzenie jego korelacji z odczynem zlepty.

Materiał i metody

Szczep *S. pullorum*. Do badań użyto szczepu Sp₁₁ *S. pullorum*, otrzymanego z Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Anglia.

Surowice. Surowice dodatnie uzyskano na drodze uodporniania 3 miesięcznych kurcząt zawiesiną szczepu *S. pullorum* otrzymaną z 18-to godzinnej hodowli na agarze zwykłym. Gęstość zawiesiny odpowiadała 3 próbie skali McFarlanda. Wykonano 4 iniekcje domięśniowe, w dawkach wzrastających od 0,2 do 1 ml, w odstępach 3 dniowych, a następnie po 7 dniach cykl iniekcji dożylnych stosując dawki 0,2; 0,5; 1,0 i 1,0 ml,

również w odstępach 3 dniowych. Po tygodniu od ostatniej iniekcji ptaki skrawiono. Miana aglutynacji w uzyskanych surowicach wynosiły od 1:640 do 1:1280.

Surowice ujemne uzyskano od ptaków zdrowych wykazujących ujemną reakcję aglutynacji, z których, po skrawieniu, nie izolowano *S. pullorum*.

Antygeny do odczynu aglutynacji.

Do aglutynacji płytowej z pełną krwią używano antygeny „Pullognost” produkcji Puławskich Zakładów Przemysłu Bioweterynaryjnego (Biowet).

Do aglutynacji próbkowej używano zawiesiny bakteryjnej przygotowanej w sposób następujący: hodowlę *S. pullorum* na agarze zwykłym splukano płynem fizjologicznym, zawiesinę odwirowano, masę bakteryjną zawieszono w płynie fizjologicznym z dodatkiem 0,5% fenolu, przyjmując około 50 mg wilgotnej masy bakteryjnej na 1 ml płynu. Uzyskaną w ten sposób zawiesinę rozcieńczano 1:10.

Wyciągi bakteryjne.

Przygotowano dwa rodzaje wyciągów:

— wyciąg wodny wg metody Whiteside i Bakera (6), która polega na dwukrotnym ekstrahowaniu, przez 24 godziny w temp. +4°C., wodą destylowaną bakterii *S. pullorum* wysuszonych acetonem. Uzyskany po odwirowaniu płyn z nad osadu z 1 i 2 ekstrakcji dializowano w wodzie destylowanej i liofilizowano. Preparat otrzymany w ten sposób oznaczono symbolem WW.

— wyciąg fenolowy otrzymano metodą Westphala i wsp. (7) stosując do ekstrakcji wysuszonych acetonem bakterii mieszaninę fenolu z wodą o temp. 63—65°C. Z fazy wodnej, po dializie i cześciowym zagęszczeniu, wytrącano zimnym (+4°C) 96% etanolem i lipowielocukier zawierający kwasy nukleinowe. Preparat ten określono symbolem WF.

Ptaki doświadczalne.

Doświadczenie II przeprowadzono na 24 kurczętach w wieku 6 tyg. rasy ogólnoużytkowej. Kurczęta przed zakażeniem poddano wstępnym badaniom serologicznym przy użyciu ww. antygenów. Ptaki te nie wykazywały obecności przeciwciał anty — *S. pullorum*.

Tab. 1. Mianowanie wyciągów bakteryjnych w odczynie precypitacji w żelu agarowym

Surowica anty- <i>S. pullorum</i>	Wyciąg wodny - WW						Wyciąg fenolowo-wodny - WF					
	Ilość wyciągu w mg/ml PBS						Ilość wyciągu w mg/ml PBS					
	40	20	10	1,0	0,5	0,1	40	20	10	1,0	0,5	0,1
	Liczba i wyrazistość prążków precypitacyjnych						Liczba i wyrazistość prążków precypitacyjnych					
<i>ujemnie dodatnie</i>	90	3 ##	3 ##	3 #	1 +	-	3 ##	3 ##	3 #	2 ##	2 #	1 +
	83	3 ##	3 ##	2 ##	1 +	-	3 ##	3 ##	3 #	2 ##	2 #	1 +
	399	2 #	2 #	1 +	1 +	-	2 ##	2 ##	1 #	2 ##	2 #	1 +
	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Doświadczenie III przeprowadzono na 15 kurach-nio-
skach pochodzących ze stada zakażonego naturalnie
S. pullorum.

Aglutynacja płytowa z pełną krwią.

Z nakłutej żyły skrzydłowej pobierano kroplę krwi
i dokładnie mieszano na płycie z uprzednio nałożoną
kroplą antygeny „Pullognost”. Wyniki odczytywano do
3-ch minut od chwili zamieszania antygeny z krwią.

Aglutynacja próbkowa.

Surowice rozcieńczano płynem fizjologicznym od
1:10 do 1:5120. Do każdej próbki dodawano po 2
krople antygeny. Statyw z próbkami wstrząsano
i wstawiano do termostatu o temp. 37°C na 6 godzin,
a następnie pozostawiano w temperaturze pokojowej
przez noc. Wyniki odczytywano dwukrotnie: po wyjęciu
z termostatu i po 24 godz.

Precypitacja w żelu agarowym.

Agar „Difco” w ilości 1,5% rozpuszczano w 5% roz-
tworze NaCl, dodawano 0,002% oranżu metylowego i
doprowadzono do pH 7,4 przy pomocy 1 N NaOH. Przy-
gotowany żel wylewano na płytki szklane tak, aby gru-
bość rozlanej warstwy wyniosła 4 mm. Po zastygnię-
ciu żelu wycinano baseniki o średnicy 5 mm w ten
sposób, aby odległość baseników bocznych od basenika
centralnego wynosiła 4—5 mm. Dno baseników po-
krywano żelem agarowym. Antygen nalewano do ba-
senika centralnego, a badane surowice lub pełną krew
do baseników bocznych. Ilość antygeny oraz surowicy
wynosiła około 0,06 ml. Szkiełka trzymano w komorze
wilgotnej, w temp. pokojowej lub w temp. 37° C.
Wyniki odczytywano po 24, 48 i 72 godz. Przy odczy-
tywaniu spód płytki szklanej oświetlano tak, aby pra-
żki precypitacyjne były wyraźnie widoczne. Wyrazistość
reakcji oznaczano od + do +++.

Przebieg doświadczeń
i omówienie

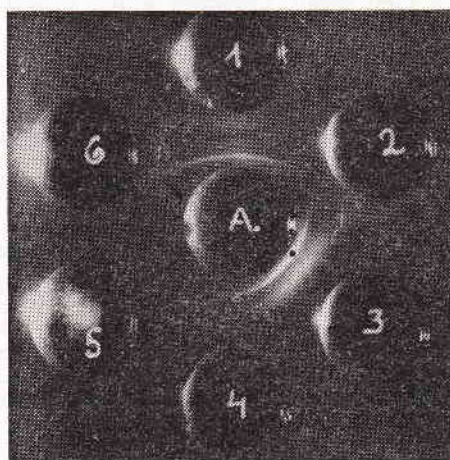
Doświadczenie I

Ocena przydatności wyciągów bakteryjnych
(WW i WF) jako antygenów od odczynu precy-
pitacji w żelu agarowym.

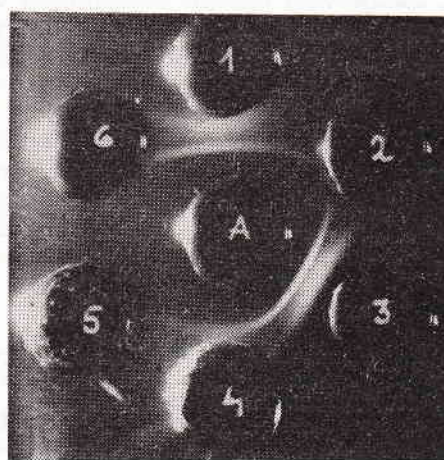
Wysuszone wyciągi bakteryjne (WW i WF) w
ilości 40; 20; 10; 1; 0,5 lub 0,1 mg rozpuszcza-
no w 1 ml buforowego płynu fizjologicznego
(PBS) o pH 7,2. Z tak przygotowanymi antyge-
nami przeprowadzono odczyn precypitacji wobec
dodatnich i ujemnych surowicy anty-*S. pullorum*.

W granicach od 10 do 40 mg/ml buforu oby-
dwa preparaty wytwarzały po 2—3 linie precy-
pitacyjne o różnym stopniu wyrazistości od ++
do +++ (tab. 1, ryc. 1, 2). Jednakże w przy-
padku antygeny WF linie precypitacyjne były
bliżej baseników z surowicą, a antygeny WW —
bliżej basenika z antygenem. Natomiast w roz-
cieńczeniach 0,1, 0,5 i 1,0 mg/ml PBS antygen
WF wytwarzał jeszcze wyraźnie czytelne prążki
precypitacyjne w przeciwieństwie do antygeny
WW, który tylko w rozcieńczeniu 1 mg/ml PBS
dawał słabo czytelną linię precypitacyjną bardzo
blisko basenika z antygenem (ryc. 3, 4). Surowi-
ce ujemne w żadnym przypadku nie dawały re-
akcji pozytywnych.

Wspomniani we wstępie autorzy japońscy (1)
do odczynu precypitacji w żelu agarowym uży-

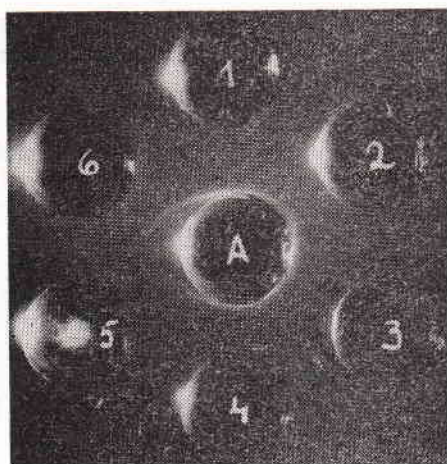


Ryc. 1. Wyciąg wodny „WW” 10 mg/ml PBS
Fot. T. Stasiak



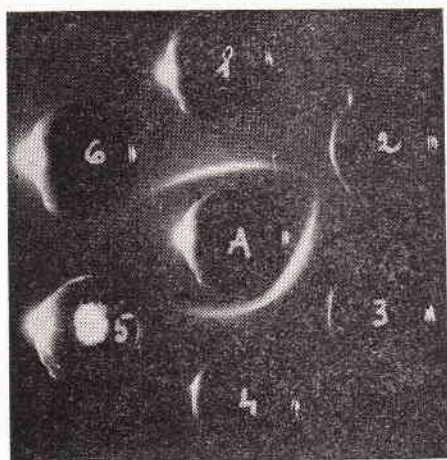
Ryc. 2. Wyciąg fenolowy „WF” 10 mg/ml PBS
Fot. T. Stasiak

Objaśnienia do ryc. 1 i 2. Mianowanie wyciągu bakteryjnego „WW” i „WF” w odczynie precypitacji w żelu agarowym.
A — wyciąg bakteryjny; 1 = surowica dodatnia 90; 2 = surowica ujemna 80; 3 = surowica dodatnia 83; 4 = surowica do-
datnia 399; 5 = surowica ujemna 3; 6 = surowica ujemna 7.



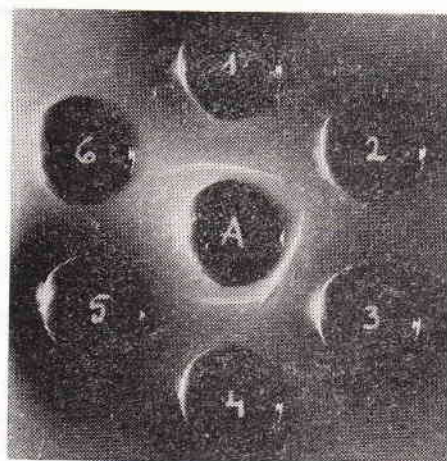
Ryc. 3. Wyciąg wodny „WW” 1 mg/ml PBS

Fot. T. Stasiak



Ryc. 4. Wyciąg fenolowy „WF” 1 mg/ml PBS

Fot. T. Stasiak



Ryc. 5. Wyciąg fenolowy „WF” 0,1 mg/ml PBS

Fot. T. Stasiak

Objaśnienia do ryc. 3–5. Mianowanie wyciągu bakteriologicznego „WW” i „WF” w odczynie precipitacji w żelu agarowym. A = wyciąg bakteriologiczny; 1 = surowica dodatnia 90; 2 = surowica ujemna 80; 3 = surowica dodatnia 83; 4 = surowica dodatnia 399; 5 = surowica ujemna 3; 6 = surowica ujemna 7.

wali handlowego japońskiego antygeny do aglutynacji z pełną krwią. W badaniach wstępnych z krajowym antygenem „Pullognost” nie udało się uzyskać prążków precipitacyjnych. Antygen japoński tym różni się między innymi od krajowego, że bakterie zawieszane są w płynie fizjologicznym zawierającym 0,5% fenolu. Prawdopodobnie ten dodatek fenolu powodował częściowe uwolnienie z drobnoustrojów antygenów rozpuszczalnych, które są czynne w odczynie precipitacji. Wyniki badań własnych wykazały, że najczulszym antygenem był wyciąg fenolowy, który nawet w rozcieńczeniu 0,1 mg/ml PBS dawał czytelną reakcję precipitacji (rys. 5).

Podobnie jak u wspomnianych autorów reakcje te występowały po 24–48 godz. zarówno w temp. pokojowej (około 20°C) jak i w temp. 37°C. Jednakże po 48 godz. inkubacji w temp. 37°C prążki precipitacyjne były bardziej wyraźne.

Do dalszych badań używano antygeny WF w dawce 1 mg/ml PBS, testy przeprowadzono w temp. 37°C, a wyniki odczytywano dwukrotnie po 24 i 48 godz. inkubacji.

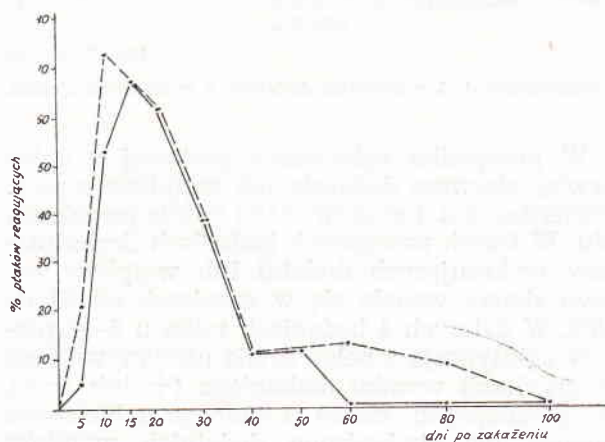
Doświadczenie II

Pojawianie się i zanikanie precipityn i aglutynin w surowicy krwi kurcząt zakażonych sztucznie *S. pullorum*.

Dziewiętnaście kurcząt zakażono jednorazowo, podskórnie 18-to godziną hodowlą bulionową *S. pullorum* w dawce 0,25 ml na sztukę. Pięć kurcząt niezakażonych stanowiło kontrolę.

W 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80 i 100 dni po zakażeniu, od kurcząt zakażonych i kontrolnych pobierano krew i wykonywano aglutynację płytową ze świeżą kroplą krwi, aglutynację probówkową z surowicą oraz precipitację w żelu agarowym z pełną krwią i surowicą.

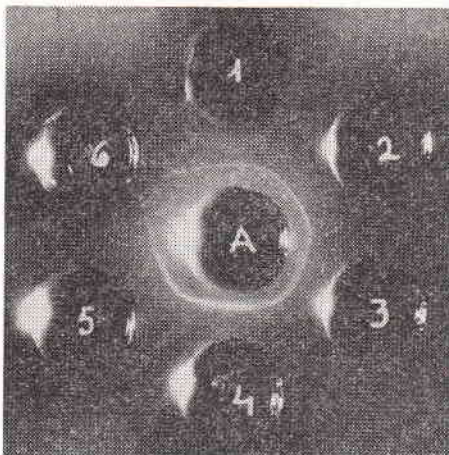
U kurcząt zakażonych aglutyniny w surowicy krwi pojawiły się 5 dnia p.i. u 4 ptaków (21%), przy czym miana ich surowic wahały się w granicach od 1:40 do 1:160 (ryc. 6). W odczynie aglu-

Ryc. 6. Odczyn precipitacji w żelu agarowym z surowicą i aglutynacji probówkowej u ptaków zakażonych doświadczalnie *S. pullorum*

Objaśnienia: ————— = precipitacja; - - - - - = aglutynacja.

tynacji próbówkowej największa liczba ptaków reagowała dodatnio między 10 a 20 dniem p.i. (od 73 do 61%). W tym czasie kurczęta wykazywały również najwyższy poziom przeciwciał w surowicy krwi (od 1:640 do 1:40). W dalszych badaniach zarówno poziom przeciwciał jak i liczba ptaków reagujących zmniejszały się i już 40 dnia badania tylko 2 kurczęta (11,1%) wykazywały dodatnią reakcję aglutynacji o mianie surowicy 1:40. U jednego z nich dodatni odczyn utrzymywał się na tym poziomie do 60 dnia, a u drugiego do 80 dnia p.i.

Precypityny w surowicy stwierdzono 5 dnia p.i. u jednego ptaka, u którego miano aglutynacji wynosiło 1:160. Między 10 a 20 dniem p.i. przeciwciała te wystąpiły u 63—61% badanych ptaków. Nasilenie reakcji oceniano na +, ++ i +++ (ryc. 7). W 10 dni później już tylko u 38,8% ptaków stwierdzono obecność przeciwciał precypitujących w surowicy krwi. W dalszych badaniach reakcje te zanikały, chociaż u 2 ptaków (11,7%) obserwowano je jeszcze w 50 dniu po zakażeniu (ryc. 7).



Ryc. 7. Precypitacja w żelu agarowym z surowicami ptaków zakażonych doświadczalnie *S. pullorum* — 15 dni p.i.

Fot. T. Stasiak

Objaśnienia: 1—5 = surowice dodatnie; 6 = surowica ujemna.

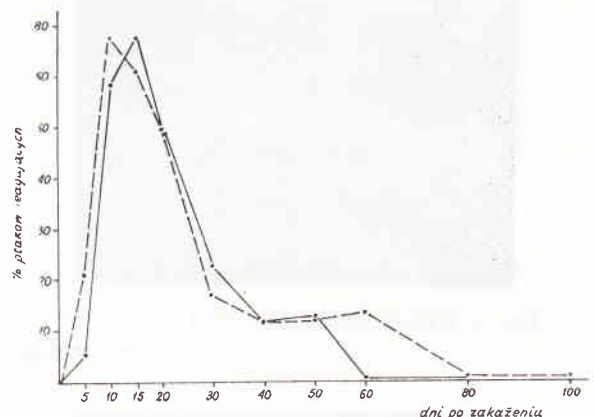
W przypadku aglutynacji płytowej z pełną krwią, pierwsze dodatnie lub wątpliwe wyniki stwierdzono u 4 ptaków (21%) 5 dnia po zakażeniu. W trzech następnych badaniach liczba ptaków wykazujących dodatni lub wątpliwy odczyn zlepnym wahała się w granicach od 68 do 50%. W dalszych 4 badaniach tylko u 3—2 ptaków aglutynacja z pełną krwią utrzymywała się w granicach wyniku dodatniego (+ lub ++). W późniejszym czasie u żadnego z badanych ptaków nie stwierdzono dodatnich wyników (ryc. 8).

Przebieg reakcji precypitacji z pełną krwią kształtował się podobnie jak precypitacji z surowicą.

Ptaki kontrolne przez cały czas doświadczenia wykazywały ujemną reakcję serologiczną bez względu na rodzaj odczynu.

Z powyższych badań wynika, że u ptaków zakażonych doświadczalnie zarazkami *S. pullorum* odsetek dodatnich reagentów w odczynie precypitacji w żelu agarowym był bardzo zbliżony do odsetka ptaków dodatnio reagujących w odczynie zlepnym. Jednakże reakcje precypitacji pojawiały się w kilka dni później w porównaniu do reakcji aglutynacji, a także wcześniej zanikały. U ptaków, u których miana aglutynacyjne surowic wahały się około 1:40, prążki precypitacyjne występowały nieregularnie i były słabo wyraźne.

Wyniki przedstawionych badań są zbliżone do wyników uzyskanych przez Aoki i wsp. (1). W przedstawionych przez nich badaniach na sztucznie zakażonych dorosłych kogutach przeciwciała precypitacyjne pojawiły się między 5 a 10 dniem p.i. i zanikały u części ptaków między 40 a 85 dniem p.i. W tym czasie miana aglutynacyjne surowic wahały się jeszcze w granicach od 1:100 do 1:200.



Ryc. 8. Odczyn precypitacji w żelu agarowym z pełną krwią i aglutynacji płytowej z kroplą krwi u ptaków zakażonych doświadczalnie *S. pullorum*

Objaśnienia: ————— = precypitacja; - - - - - = aglutynacja.

Doświadczenie III

Porównanie odczynów serologicznych i izolacji zarazka u kur naturalnie zakażonych *S. pullorum*.

Badania przeprowadzono na 15 kurach-nioskach pochodzących ze stada, w którym stwierdzono zakażenie *S. pullorum*. Ptaki przebadano serologicznie, metodami wyżej opisanymi, a następnie po skrwawieniu pobrano aseptycznie wątrobę, śledzionę, żółć, serce, trzustkę, jajnik i jajowód. Wycinki tych narządów, po roztarciu, posiano na podłoża namnażające SF₁, a następnie po 24 godz. inkubacji w temp. 37°C przesiano na podłoża stałe McConceya i B. G.

U 8 kur stwierdzono wyraźną reakcję precypitacji zarówno z surowicą jak i pełną krwią, którą oceniano na ++ i ++++. U kur tych poziom aglutynin w surowicy był wysoki i wahał się w granicach od 1:160 do 1:1280. Aglutynacja z pełną krwią była gruboziarnista, szybka i występowała w całej objętości mieszaniny antygeny i krwi. U 1 ptaka prążki precypitacyjne były słabiej zaznaczone (+), aglutynacja z pełną krwią była średnioziarnista, z tendencją do osadzania się na brzegach, a miano surowicy wynosiło 1:40. Zarazki *S. pullorum* izolowano z mieszanek badanych narządów od wszystkich 9 kur wykazujących pozytywne odczyny serologiczne. Natomiast u pozostałych 6 kur zarówno zastosowane odczyny serologiczne jak i próby izolacji zarazka wypadły ujemnie (tab. 2).

Tab. 2. Odczyny serologiczne i izolacja zarazków od kur naturalnie zakażonych *S. pullorum*

Nr ptaka	Precypitacja w żelu agarowym z		Aglutynacja		Izolacja <i>S. pullorum</i>
	pełną krwią	surowicą	płatowa z pełną krwią	próbówkowa	
200	-	-	-	-	-
202	+	+	##	1:640	+
201	+	+	##	1:160	+
203	+	+	##	1:160	+
210	-	-	-	1:10	-
197	-	-	-	1:5	-
204	+	+	##	1:1280	+
205	+	+	##	1:160	+
206	+	##	##	1:320	+
180	-	-	-	-	-
181	-	-	-	1:10	-
209	±	+	+	1:40	+
207	+	##	##	1:320	+
208	+	##	##	1:320	+
185	-	-	-	-	-

Wyniki przeprowadzonych badań na niewielkiej liczbie ptaków pochodzących ze stada, w którym stwierdzano pulorozę, zdają się wskazywać na swoistość i czułość odczynu precypitacji, a zatem na przydatność tego testu do wykrywania nosicieli zarazków *S. pullorum*.

Wydaje się jednakże, że uzyskane wyniki wymagają potwierdzenia na większej liczbie ptaków zakażonych w warunkach terenowych.

Dalszych badań wymaga również zagadnienie możliwości odróżnienia przy pomocy testu precypitacji nieswoistych („non-pullorum”) odczynów zlepnych, występujących czasami przy metodzie aglutynacji z pełną kroplą krwi.

Wnioski

1. Do odczynu precypitacji w żelu agarowym bardziej przydatny jako antygen okazał się wyciąg fenolowy.

2. Procent ptaków dodatnio reagujących w odczynie aglutynacji i precypitacji u kurcząt doświadczalnie zakażonych zarazkami *S. pullorum* był bardzo zbliżony. Jednakże aglutyniny pojawiały się wcześniej i utrzymywały się dłużej niż precypityny.

3. U ptaków naturalnie zakażonych *S. pullorum* stwierdzono pełną zgodność pomiędzy odczynem precypitacji oraz aglutynacji, a izolacją zarazka z narządów wewnętrznych.

4. Odczyn precypitacji może być przydatny do wykrywania nosicieli zarazków *S. pullorum*.

Piśmiennictwo

1. Aoki S., Kashiwazaki M., Sato S., Watase H., Sakamoto Ch.: Nat. Inst. Animal Health. Quart. 4, 175, 1963.
2. Brill J., Gołębiowski S.: Roczn. Nauk Roln. 67-E, I, 25, 1955.
3. Burton W. H., Garrard E. M.: Can. J. Comp. Med. and Vet. Sci. 12, 20, 1948.
4. Kirzajew F. S.: Wietierinarija (Moskwa) 7, 65, 1971.
5. Sawow D. K., Obreszkow K.: Wet. Med. Nauki 4, 41, 1973.
6. Whiteside R. E., Baker E. E.: J. Immunol., 88, 650, 1962.
7. Westphal O., Lüderitz O., Bister F.: Zeitschr. Naturforsch., 76, 148, 1952.

Adres autora: dr Mirosława Różańska, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

Ружанская М., Киржаев Ф. — Пригодность реакции преципитации в агаровом геле для обнаружения кур, инфицированных *S. pullorum*.

Из приготовленных двух бактериальных вытяжек феноловая вытяжка оказалась более пригодной для теста преципитации в агаровом геле чем водная.

Группу 19 цыплят, инфицированных подожко *S. pullorum* в избранные интервалы времени, исследовали методом плиточной агглютинации с каплей свежей крови, пробирочной агглютинации, а также преципитации в агаровом геле с полной кровью и сывороткой. Процент птиц, положительно отзывающихся в реакциях агглютинации и преципитации, был очень близок. Агглютинины у некоторых птиц появились уже на 5 день после инфекции, преципитины же — на 10 день. Наибольшее число положительных реакций во всех реакциях обнаружили между 10—20 днями п.и. (50—74%). У единичных птиц преципитины сохранялись по 50 день, а агглютинины — по 80 день п.и.

У птиц, инфицированных натурально *S. pullorum*, нашли полное соответствие между реакцией агглютинации и преципитации а изоляцией возбудителя из внутренних органов.

Кажется, что реакция преципитации в агаровом геле может быть пригодной для обнаружения носителей возбудителей *S. pullorum*.

Różańska M., Kirzajew F. — Usefulness of gel-precipitation test to discover hens infected with *S. pullorum*.

Of two bacterial extracts examined phenol extract proved to be more useful for gel-precipitation test compared with water extract. A group of chickens, consisting of 19 birds infected with *S. pullorum* subcutaneously, was examined in different time by means of slide agglutination test with a fresh drop of blood, tube agglutination and gel-precipitation with full blood and serum. The percentage of chicks reacting positively in the both tests was very similar. Agglutinins appeared in some chickens very early, i.e. in five days post infection and in case of precipitins in 10 days. The highest number of birds reacting positively was found between 10 and 20 days after infection (50—74%). In some chicks precipitins persisted up to 50 days and agglutinins up to 80 days after infection. In hens naturally infected with *S. pullorum* there was found a good agreement between agglutination and precipitation tests and bacteriological examination by means of bacteria isolation from internal organs. It seems that the gel-precipitation test may be useful to discover carriers of *S. pullorum*.