

Estudio cuantitativo de la fijación del complemento con virus vesiculosos

Por el doctor ENRIQUE HEINSOHN DE BRIGARD

INTRODUCCION

En la práctica rutinaria del diagnóstico y tipificación de virus aftoso y de la estomatitis vesicular, lo mismo que en las pruebas de pureza de cepas y determinación de variantes de los tipos de virus aftosos por la fijación de complemento, es fenómeno conocido que cuando la prueba se realiza con un antígeno potente en presencia de un antisuero de título alto, la fijación es más notoria que cuando uno de estos elementos es de bajo poder.

Sin embargo, no se conoce exactamente la intensidad con que el complemento es fijado de acuerdo con la potencia de cada uno de los dos elementos reaccionantes. Se sabe igualmente que en la rutina del laboratorio es necesario usar antisueros de alta potencia para detectar antígenos pobres de muestras de campo tomadas

en estado avanzado de la enfermedad, en forma inadecuada o en cantidad insuficiente, para determinar trazas de virus heterólogo en una cepa durante el chequeo de pureza, pero sin poder decir hasta qué punto es necesario el empleo de estos antisueros.

Para conocer la intensidad del papel jugado en la reacción por cada uno de estos elementos, con relación a su potencia, se llevó a cabo este trabajo haciendo un estudio comparativo entre los virus de fiebre aftosa tipos «O» y «A» y virus de la estomatitis vesicular tipos «New Jersey» e «Indiana», ya que en el diagnóstico de todo material, la reacción se lleva a cabo con antisueros específicos de los tres tipos de virus de la fiebre aftosa («O» — «A» — «C») y los dos tipos de virus de la estomatitis vesicular («Ind.» y «NJ»).

CLINICAS DE LA FACULTAD

En las clínicas de la Facultad se atiende permanentemente toda clase de consultas.

Cuenta con magníficos establos para la hospitalización y tratamiento de los enfermos.

Para la realización del trabajo se empleó el método de fijación de complemento por apreciación del 100% de fijación, según la técnica de Traub.

De virus aftoso se seleccionó una muestra de campo clasificada por fijación de complemento como virus aftoso tipo «O» y que demostró buen poder fijador de complemento, y material pasado varias veces por bovino en el laboratorio.

Como antígenos de estomatitis vesicular se emplearon extractos de embriones de pollo que habían sido inoculados con dos cepas de virus de distinta procedencia, con el fin de obtener resultados de antígenos de diferente naturaleza.

Se emplearon en todos los casos antisueros específicos producidos por hipermunización intraplantar de cobayos en nuestro laboratorio, y que habían pasado satisfactoriamente las pruebas de efecto anticomplementario, especificidad y potencia.

No quiero seguir adelante con este trabajo, sin antes dar mis más profundos agradecimientos al profesor doctor Erich Traub, de quien adquirí mis conocimientos de virología y en especial de fiebre aftosa, y al doctor Hernando Almanza Reyes, Director del Instituto Behring, a quien debo el haber elegido la especialización en laboratorio e investigación.

Consideraciones teóricas

Complemento: Se obtiene de la sangre de cobayos machos, por punción cardíaca, separando el coágulo por centrifugación y añadiendo al suero el preservativo de Witte a partes iguales.

Aunque sólo se usan complementos de un título de 2% a 4%, no se mezclan para las pruebas de rutina aquellos que poseen un mismo poder hemolítico, pues se ha observado que ciertos complementos, aunque sean de un buen título, son mal fijados por el compuesto antígeno-antisuero. Para evitar falsos resultados en la prueba, se usó el mismo complemento para todas las reacciones corridas con cada antígeno.

Antígeno: El elemento desconocido en las pruebas de diagnóstico, está sujeto a mayores variaciones, dadas las diferentes fuentes de origen, fácil alterabilidad y diferencias en el contenido de componente fijador de complemento, independientemente de la concentración de partículas infectantes. La muestra para diagnosticar puede ser: cojinete dental, epitelio lingual, epitelio interdigital, del rodete coronario, de los pezones, vulva o ano para fiebre aftosa y estomatitis vesicular, y también embrión de pollo, membranas o líquido del mismo, o cerebro de ratón para estos últimos virus. Por otra parte, la conservación del componente fijador de complemento, independientemente de la partícula infectante, determina la concentración de aquel en el momento de la reacción. No puede compararse la calidad de un material obtenido en el laboratorio con la de un material recolectado en el campo, casi siempre en estado avanzado de la enfermedad y sometido a las demoras de un transporte sin refrigeración alguna, cuya duración puede ser de días. Dentro del mismo tipo y aún variante de virus, no todas las cepas tienen el mismo contenido en partículas infectantes y en

componente fijador de complemento, no existiendo relación directa ni proporción indirecta entre la concentración de los dos. Dados todos estos factores, es necesario saber que la variabilidad del antígeno puede representar el éxito o el fracaso en la reacción, si las concentraciones de los otros elementos reaccionantes no son adecuadas y capaces de poner de manifiesto la presencia de cualquier cantidad de antígeno, dentro de los límites de sensibilidad que permite la prueba.

Antisuero: El antisuero de cobayo, obtenido por hipermunización intraplantar, u otro método cualquiera, es el factor de mayor importancia en la reacción y su título, el que determina la sensibilidad de la misma, siendo también sus características las más estables y fáciles de controlar.

Materiales

Antígenos: Se usó para la prueba con virus «O», antígeno de la muestra de campo N° 27; para el virus «A» se escogieron materiales obtenidos de diferentes pases por bovino, de la cepa A40 y del primer pase de la cepa A215 y material de campo de la muestra A360 proveniente de vesículas podales de cerdo. Para el trabajo con virus de estomatitis vesicular «NJ» se empleó un extracto de embriones de pollo del 4° pase de la cepa «NJ» Ogden. Para el virus Indiana se empleó un extracto de embriones y membranas de embriones de pollo del 2° pase por huevo de la cepa de estomatitis vesicular «Indiana» N° 121.

En todos estos casos, el material fue triturado con arena purificada estéril

y suspendido en salina-buffer, después de lo cual era sometido a centrifugación por 15 minutos a 2.500 RPM, retirándose el sobrenadante. Los antígenos de bovino y cerdo una vez extraídos fueron inactivados por 30 minutos a 56 gr. c. para destruir el efecto anticomplementario.

Complemento: El complemento usado para cada tipo de virus fue durante toda la prueba el mismo, habiéndose usado en cada prueba un complemento diferente. En cada uno de los casos se empleó una mezcla de complementos obtenidos de varios cobayos, con el fin de tener cantidades suficientes y eliminar la posibilidad de reacciones dudosas por la presencia de complementos pobres u escasos en el tercer componente y cuya fijabilidad fuese defectuosa.

Antisueros: Los antisueros específicos usados en las reacciones con los cuatro antígenos fueron producidos en el Laboratorio de Tipificación y Diagnóstico de Aftosa, de acuerdo con el método de Traub, por hipermunización intraplantar de cobayos. Para la producción de antisueros O «Pepino» y A98 se emplearon respectivamente las cepas O1 («Pepino») y A98 de origen colombiano y para los antisueros N.J. e Indiana, se emplearon las cepas N.J. Ogden e Indiana For Lupton, procedentes del Instituto de Bethesda (Estados Unidos).

Métodos

Los antígenos obtenidos de pases por bovino, fueron logrados por inoculación intradermo-lingual en animales susceptibles, con extractos al 10% de material infectante, y recolectados

de 24-48 horas después de la inoculación.

La obtención de antígeno de embrión de pollo se llevó a cabo por inoculación del material infectante previamente filtrado, en la cavidad alantoidiana de embriones de 7 a 9 días, recolectándose luego en condiciones de esterilidad. Una vez realizadas las pruebas de esterilidad se demostró la pureza de tipo por fijación de complemento.

Las pruebas de titulación de complemento, titulación de complemento en presencia de suero normal de curi y de antígeno, efecto anticomplementario de los antisueros, pureza y especificidad de los mismos y las reacciones de fijación de complemento durante todo el trabajo, fueron realizadas de acuerdo con el método de 100% de fijación según la técnica de Traub.

En este método, llamamos una unidad de complemento (IUC) la mínima concentración de complemento que es capaz de producir la lisis total de un volumen igual de suspensión de glóbulos rojos a un porcentaje standard, en presencia de hemolisina u amboceptor hemolítico. Recibe el nombre de 2UC la cantidad de complemento que equivale a 1% más que la unidad de complemento, o sea que si 1UC es 4%, 2UC equivale a 5%.

Las cantidades empleadas para la reacción son de 0.25 c. c. de antisuero, antígeno y complemento y 0.5 c. c. de sistema hemolítico, del que corresponden 0.25 c. c. a la dilución de hemolisina y 0.25 c. c. a la suspensión de glóbulos rojos.

Para efectos de la lectura, representamos la fijación total del complemen-

to o lisis negativa, como 4 cruces (++++) y la fijación negativa o lisis total como negativo (—), existiendo los grados intermedios de: trazas de hemólisis (++++), tres y media cruces (+++½), tres cruces (+++), dos y media (++½), dos cruces (++), una y media (+½), una cruz (+), media (½+) y trazas (tr.).

Llamamos SC1 a los controles de antisuero que llevan complemento pero no tienen antígeno y SC2 a los controles de antisuero que no llevan ni complemento ni antígeno. El primero nos dice si el antisuero es anticomplementario y el segundo si posee poder hemolítico (complemento) El control de antígeno AC1 no lleva antisuero, pero contiene complemento y nos dice si el antígeno es anticomplementario y el AC2 no lleva ni antisuero ni complemento y nos dice si el antígeno es hemolítico, a la vez que nos sirva de control de fijación total (++++).

Parte experimental

Para conocer las diferentes concentraciones de los distintos antígenos que en presencia de variables diluciones de antisuero homólogo fijaban totalmente las dos unidades de complemento, se llevó a cabo la reacción que aparece en el cuadro N° I, con el virus de la fiebre aftosa tipo «O» y en forma similar con los virus de fiebre aftosa tipo «A» y estomatitis vesicular tipos «NJ» e «Indiana», como aparece en los cuadros Nos. VIII-XV-XXII.

Para efectos de la lectura, únicamente nos interesan los puntos finales de fijación, o sea aquellos donde hubo fijación total.

En el cuadro N° I vemos que las diluciones de antígeno 1:1 - 1:1,5 - 1:2 - 1:3 - 1:4 fijaron totalmente las dos unidades del complemento con diluciones de antisuero hasta de 1:160, la dilución de antígeno 1:6 hasta con diluciones de antisuero 1:40 y la dilución de antígeno 1:8 hasta con concentraciones de antisuero de 1:5.

Para la reacción siguiente sólo se usaron las diluciones de antígeno 1:1 - 1:2 y 1:4 por corresponder con las diluciones de antisuero en cuanto a la disminución progresiva de la concentración. Esta reacción consistía en determinar el porcentaje de complemento que era fijado totalmente por las diferentes combinaciones de antígeno y de antisuero, con el fin de calcular la variación en la intensidad de fijación al modificar la concentración de cada uno de estos dos elementos. Los resultados aparecen en el cuadro N° II, correspondiendo el **a** para el antígeno 1:1, el **b** para el antígeno 1:2 y el **c** para el antígeno 1:4. En este cuadro, como en los demás de fijación de complemento, los puntos finales de fijación aparecen dentro de casillas gruesas.

Al pasar estos resultados a la gráfica (cuadro N° III), se puede observar que los puntos finales de fijación se corresponden en tal forma que puede trazarse una recta sin que sufran desviaciones apreciables.

Como es obvio, el sistema de fijación de complemento usado, con lectura de hemólisis por apreciación al ojo, puede tener varias fuentes de error en la apreciación misma de la fijación, pues aún con una larga práctica es imposible a veces determinar ligeras trazas de hemólisis, lo mismo

que puede darse por ligeras trazas una fijación que ha sido total. Además hay que tener en cuenta que la variación de la concentración del complemento fue del 1%, es decir que iba aumentando de uno en uno y que no se hizo con fracciones de unidad, o sea 8,5%, 9%, 9,5% 10%, etc.

Teniendo en cuenta estos puntos, podemos transformar los resultados al cuadro N° IV, donde aparece en la primera columna vertical la dilución de antisuero, en la segunda, cuarta y sexta columnas la dilución de antígeno correspondiente y en la tercera, quinta y séptima la diferencia en porcentaje de complemento fijado existente entre las dos concentraciones de antisuero con el antígeno correspondiente de la columna de la izquierda.

En el presente caso tenemos que en la segunda columna vertical, o sea en la que corresponde al antígeno 1:4, la diferencia de fijación que existe entre una dilución de antisuero y la inmediatamente superior o inferior es de 2 en todos los casos. En la cuarta columna vertical vemos que las diferencias varían entre tres y cuatro con un promedio de 3,4; en la sexta columna vertical varían de cuatro a seis con un promedio de cinco.

Ahora bien: teniendo en cuenta los factores que han podido inducir a error en la lectura y el hecho de no haberse realizado la reacción con fracciones de unidad por ciento, podemos suponer que en el caso de la columna del antígeno 1:2 el promedio sea de 3,5 aproximando el decimal y que la diferencia entre una cualquiera de las concentraciones de antisuero y la inmediatamente superior o inferior sea de 3,5, en cuyo caso la fi-

jación sería de 24,5 - 21 - 17,5 - 14 - 10,5 y 7 en vez de 24 - 21 - 17 - 14 - 11 y 7, variación que es perfectamente posible y explicable por los factores anteriormente expuestos. En el caso de la columna del antígeno 1:1, la diferencia de la fijación de una cualquiera de las diluciones de antisuero con la inmediatamente superior e inferior sería de 5, o sea el promedio de la diferencia obtenida en la reacción, en cuyo caso la fijación sería de 32 - 27 - 22 - 17 - 12 y 7, en vez de 32 - 27 - 23 - 17 - 11 y 7.

En el cuadro N° VII puede verse la transformación del cuadro N° III, apareciendo en línea continua las fijaciones obtenidas y en línea interumpida las calculadas de acuerdo con los factores de error.

Si tomamos las tres cifras del promedio de la diferencia existente entre la fijación de las diferentes concentraciones de antisuero frente a cada una de las tres diluciones de antígeno, o sea 2 - 3,5 y 5 vemos que la diferencia entre ellas es de **1,5**.

Si observamos el cuadro N° V, que representa en forma igual al anterior, la diferencia existente entre el porcentaje de fijación de las diferentes concentraciones de antígeno con cada dilución de antisuero, con las cifras corregidas en el cuadro N° IV, vemos que los promedios de la diferencia para las diluciones de antisuero 1:5 - 1:10 - 1:20 - 1:40 - 1:80 y 1:160 son respectivamente 7,5 - 6 - 4,5 - 3 - 1,5 y 0, o sea que existe entre ellas una diferencia de **1,5**.

Al estudiar el cuadro N° VI, en el cual aparecen las cifras de fijación, de acuerdo con la corrección, dentro de las casillas gruesas, las diferen-

cias entre las fijaciones opuestas diagonalmente de abajo hacia arriba y de derecha a izquierda en el cuadro, entre casillas dobles y las diferencias entre las fijaciones opuestas vertical u horizontalmente en el cuadro, dentro de casillas sencillas, además de los datos obtenidos en los cuadros Nos. IV y V podemos observar que al aumentar simultáneamente la concentración de antisuero y de antígeno, la diferencia de la fijación aumenta en **3%**, que corresponde la mitad al aumento del antisuero y la mitad al aumento del antígeno (1,5 más 1,5). Por ejemplo, la fijación del antisuero 1:160 más antígeno 1:4 es 7, la de antisuero 1:80 más antígeno 1:2 es 10,5, y la de antisuero 1:40 más antígeno 1:1 es 17 o sea que entre 7 - 10,5 y 17 las diferencias son 3,5 y 6,5 entre las cuales hay una diferencia de **3**. La fijación de antisuero 1:40 más antígeno 1:4 es 11, la de antisuero 1:20 más antígeno 1:2 es 17,5 y la de antisuero 1:10 más antígeno 1:1 es de 27, o sea que entre 11 - 17,5 y 27 las diferencias son de 6,5 y 9,5 entre las cuales hay un intervalo de **3** y así sucesivamente.

Con el virus de la fiebre aftosa tipo «A» observamos en el cuadro N° VIII que las diluciones de antígeno 1:1 fijaron totalmente las dos unidades de complemento hasta con diluciones de antisuero 1:40 y que las diluciones de antígeno 1:2 lo hicieron hasta con concentraciones de antisuero de 1:20.

Para poder establecer la relación existente entre las dos concentraciones de antígeno, para la prueba que aparece en el cuadro N° IX sólo se em-

plearon las diluciones de antisuero 1:5, 1:10 y 1:20. Al observar los resultados que aparecen en el cuadro N° IX y que corresponden los de **a** para el antígeno 1:1 y los de **b** para el antígeno 1:2 y trasladarlos a la gráfica que aparece en el cuadro N° X, podemos ver que, como en el cuadro correspondiente del virus «O», los puntos finales de fijación se corresponden en tal forma, que las desviaciones de la recta que entre ellos puede trazarse, no son apreciables.

Teniendo presentes los factores de error, podemos transformar los resultados al cuadro N° XI (que corresponde al cuadro N° IV del virus de fiebre aftosa tipo «O») donde se puede ver claramente que en la columna del antígeno 1:1, si la fijación que corresponde a la dilución de antisuero 1:10 hubiese sido de 16,5 en lugar de 16 lo que es perfectamente posible, las diferencias entre las fijaciones de las tres diluciones de antisuero con el antígeno 1:1 serían idénticas entre sí, como lo son con el antígeno 1:2. El intervalo entre los promedios de las diferencias de fijación existente entre una cualquiera de las diluciones de antisuero y la inmediatamente superior o inferior, o sea 3 y 4,5 es de **1.5**.

En el cuadro N° XIV puede verse la transformación del cuadro N° X, apareciendo en línea continua las fijaciones obtenidas y en línea punteada las calculadas de acuerdo con los factores de error.

En el cuadro N° XII que representa en forma similar al cuadro N° V (del virus «O») la diferencia existente entre el porcentaje de fijación de las diferentes diluciones de antígeno frente a cada concentración de antisuero,

con la cifra corregida en el cuadro N° XI, podemos ver que las diferencias de fijación para las diluciones de antisuero 1:5, 1:10 y 1:20, son respectivamente de 8, 6,5 y 5, existiendo entre ellas un intervalo de **1.5**.

Debido a que los títulos bajos del antígeno no permitieron hacer más extensa la prueba, es imposible con este virus demostrar aquí la diferencia de fijación que se obtiene al duplicar a la vez la concentración de antisuero y la de antígeno, como aparece en el cuadro N° VI del virus «O».

Con el virus de la estomatitis vesicular NJ, los resultados son similares. Si observamos los cuadros Nos. XV, XVI XVII, XVIII, XIX, XX y XXI, que corresponde a los cuadros Nos. I, II, III, IV, V, VI y VII del virus de la fiebre aftosa tipo «O», podemos notar que los resultados obtenidos son iguales, es decir que el promedio de la diferencia existente entre el porcentaje de fijación de las diferentes concentraciones de antígeno con cada dilución de antisuero, con las cifras corregidas en la misma forma que las anteriores, en el cuadro N° XVIII, es de 2,5 y 4, que presentan entre sí una diferencia de **1.5**.

Es de anotar que en la fijación del antígeno 1:1 con la dilución de antisuero 1:5 tuvo que haber un error, ya sea en la pipeteada, la apreciación, etc., pues esta cifra se aparta de la recta más de lo natural, como podemos apreciarlo en el cuadro N° XXI.

Vemos también en el cuadro N° XIX que el promedio de la diferencia de fijación para las diluciones de anti-

suero 1:5 - 1:10 - 1:20 - 1:40 - 1:80 son de 8 - 6,5 - 5 - 3,5 y 2 entre las que existe una diferencia de 1,5.

Con este virus, como con el de la fiebre aftosa tipo «A» y por las mismas razones, no es posible demostrar aquí la diferencia de fijación que se obtiene al duplicar a la vez la concentración del antígeno y la del suero.

Al observar los cuadros y gráficas que corresponden al virus de la estomatitis vesicular «Indiana» (XXII XXIII, XXIV, XXV, XXVI, XXVII, y XXVIII) y ver cómo se corrigieron las cifras obtenidas, de la misma manera que se hizo en los casos anteriores, aparece de nuevo el factor 1,5, jugando en la misma forma y con la misma constancia con que lo hace con los demás virus empleados.

Discusión

De lo expuesto en la parte experimental de este trabajo, y al estudiar los cuadros y gráficas resultantes, se pueden observar los siguientes hechos de importancia en las distintas combinaciones antígeno-complemento-antisuero, en la reacción llamada fijación de complemento.

La interpretación de los resultados se ha hecho partiendo del porcentaje punto final de complemento fijado en cada una de las diluciones de antisuero, con cada una de las concentraciones de antígeno. Al comparar estos puntos finales se observa que la diferencia de fijación existente de concentración a concentración de antisuero, es sensiblemente igual para cada di-

lución de antígeno; al proseguir esta comparación aparece el factor 1,5 común a todos los virus aftosos y vesiculares, entre las diferentes concentraciones de antígeno y entre las distintas diluciones de antisuero (usando siempre el factor de dilución $\times 2$). Este fue un resultado que se esperaba desde los primeros trabajos, al observar la progresión aritmética seguida por los puntos finales de fijación de complemento en el virus «O». Pero lo realmente interesante, fue encontrar que en todos los virus, el factor de progresión fué sensiblemente el mismo.

Partiendo de este hecho, se hicieron los cálculos que se suponían lógicos, para comparar las diferencias de fijación de una concentración de un componente y la que equivalía al doble de ella o a su mitad, con el doble o la mitad del otro, y fue también sorprendente el encontrar que estas siempre respondían a un múltiplo o submúltiplo del factor 1,5.

Por ejemplo: en todos los casos, dada una concentración de antígeno, las diferencias entre la fijación (en porcentaje) de una dilución de antisuero y otra que posea el doble de su concentración, y entre aquella y una que posea la mitad de su concentración, son iguales. Al duplicar o disminuir a la mitad la concentración de antígeno, esta diferencia existente entre las diluciones de antisuero, se aumenta o disminuye en 1,5.

En la misma forma, dada una concentración de antisuero, las diferencias entre la fijación (en porcentaje) de una dilución de antígeno y otra que posea el doble de su concentración y entre aquella y otra que posea la mitad de su concentración, son

iguales. Al duplicar o disminuir a la mitad la concentración de antisuero, esta diferencia existente entre las diluciones de antígeno, se aumenta o disminuye en 1,5.

Al aumentar o disminuir a la mitad simultáneamente la concentración de antígeno y antisuero, la intensidad de la fijación se manifiesta en la misma proporción. De modo que si la fijación de una dilución de antisuero y una concentración de antígeno dadas, difiere de otra que equivale al doble de su concentración de antisuero y antígeno en un porcentaje de complemento X, la diferencia que existe en la fijación (en porcentaje) entre esta nueva combinación y otra que equivalga al doble de su concentración en estos dos componentes, es de X más 3, correspondiendo de este aumento 1,5 para el antígeno y 1,5 para el antisuero.

Además, al observar los cuadros Nos. I y XXII, se ve claramente que la concentración de antígeno influye sobre el título del antisuero, o sea la máxima dilución de antisuero que es capaz de fijar las dos unidades de complemento en presencia de antígeno homólogo, y que la misma influencia se manifiesta en el título del antígeno con relación al poder y concentración de antisuero.

Vemos por ejemplo en el cuadro N° I, que el título del suero con el antígeno usado y diluido 1:8, es de 1:5, con la dilución de antígeno 1:6 es de 1:40 y con la dilución de antígeno 1:4 es de 1:160.

En el cuadro N° XXII, el título del antisuero con la dilución de antígeno 1:8 es de 1:80 y con la dilución de antígeno 1:4 es de 1:320.

Si se observan estos cuadros, se puede notar que sucede exactamente lo mismo con el título del antígeno, al variar las concentraciones de antisuero.

La proporción en que influye el mismo aumento o disminución de la concentración del antígeno o del antisuero sobre la intensidad de la fijación, es exacta.

Esta proporción es igual para los cuatro virus usados, comportándose todos ellos en forma idéntica desde el punto de vista de la fijación del complemento.

Conclusiones

1ª Existe un factor constante entre las diferencias de fijación de las diluciones de antisuero con cada una de las concentraciones de antígeno, y las diferencias de fijación de las diluciones de antígeno con cada una de las concentraciones de antisuero. Este factor es 1,5.

2ª Desde el punto de vista de la fijación de complemento, los antígenos y los antisueros de fiebre aftosa y de estomatitis vesicular actúan en forma idéntica, y sus variaciones influyen en la intensidad de la fijación del complemento en forma exacta.

3ª Para titular un antisuero o un antígeno, sería necesario usar un antígeno o un antisuero «standard».

a

Compl %	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
Antisue. 1:5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:160	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

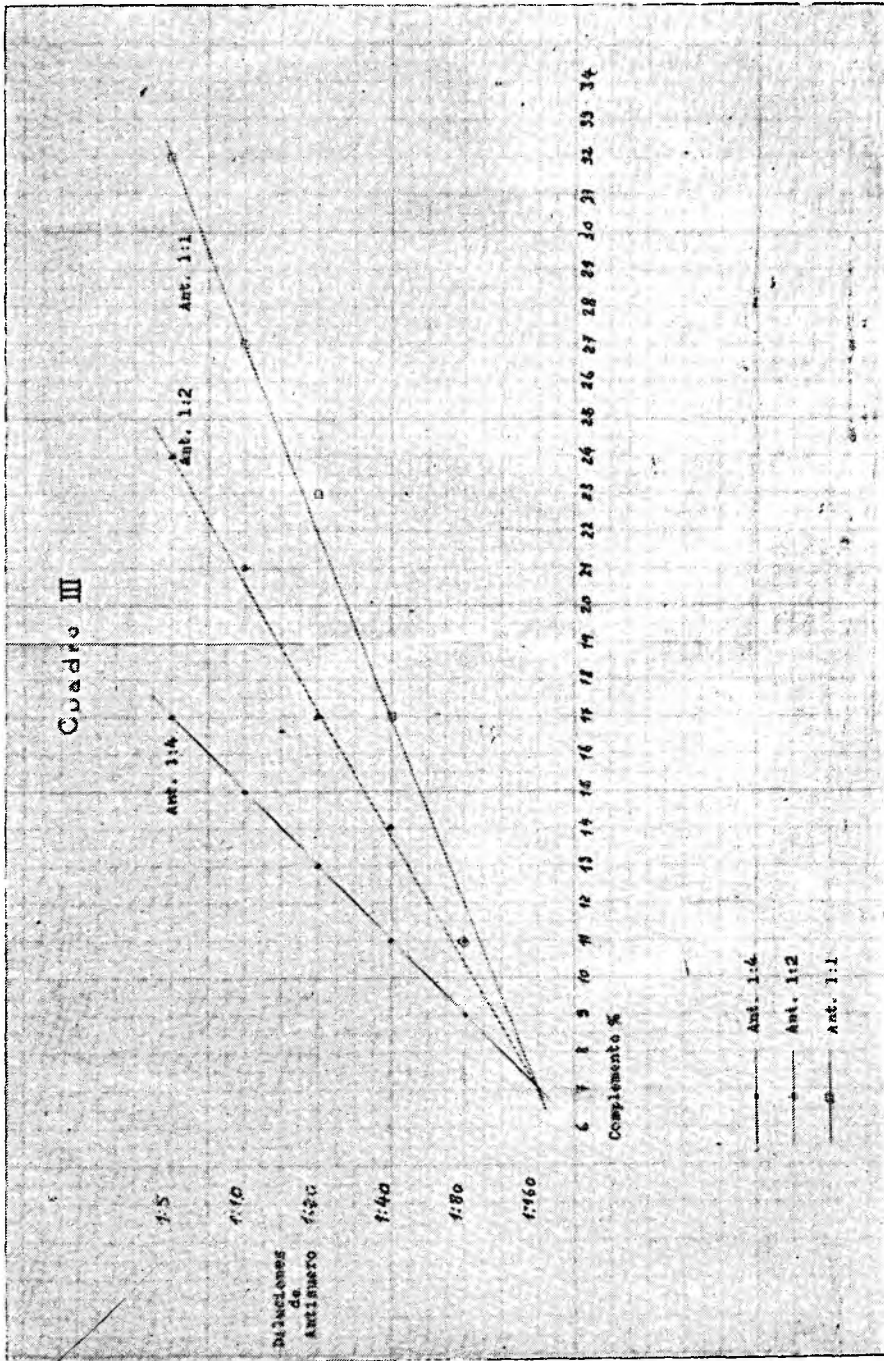
b

Compl %	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Antisue 1:5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:160	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

c

Compl %	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Antis. 1:5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:160	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

CUADRO N° II



	1:4	Dif.	1:2	Dif.	1:1	Dif.
1:5	17	2	24	3	32	5
1:10	15		21		27	
1:20	13	2	17	4	23	4
1:40	11	2	14	3	17	6
1:80	9	2	11	3	11	6
1:160	7	2	7	4	7	4
Prom. Dif.		2		3,4		5

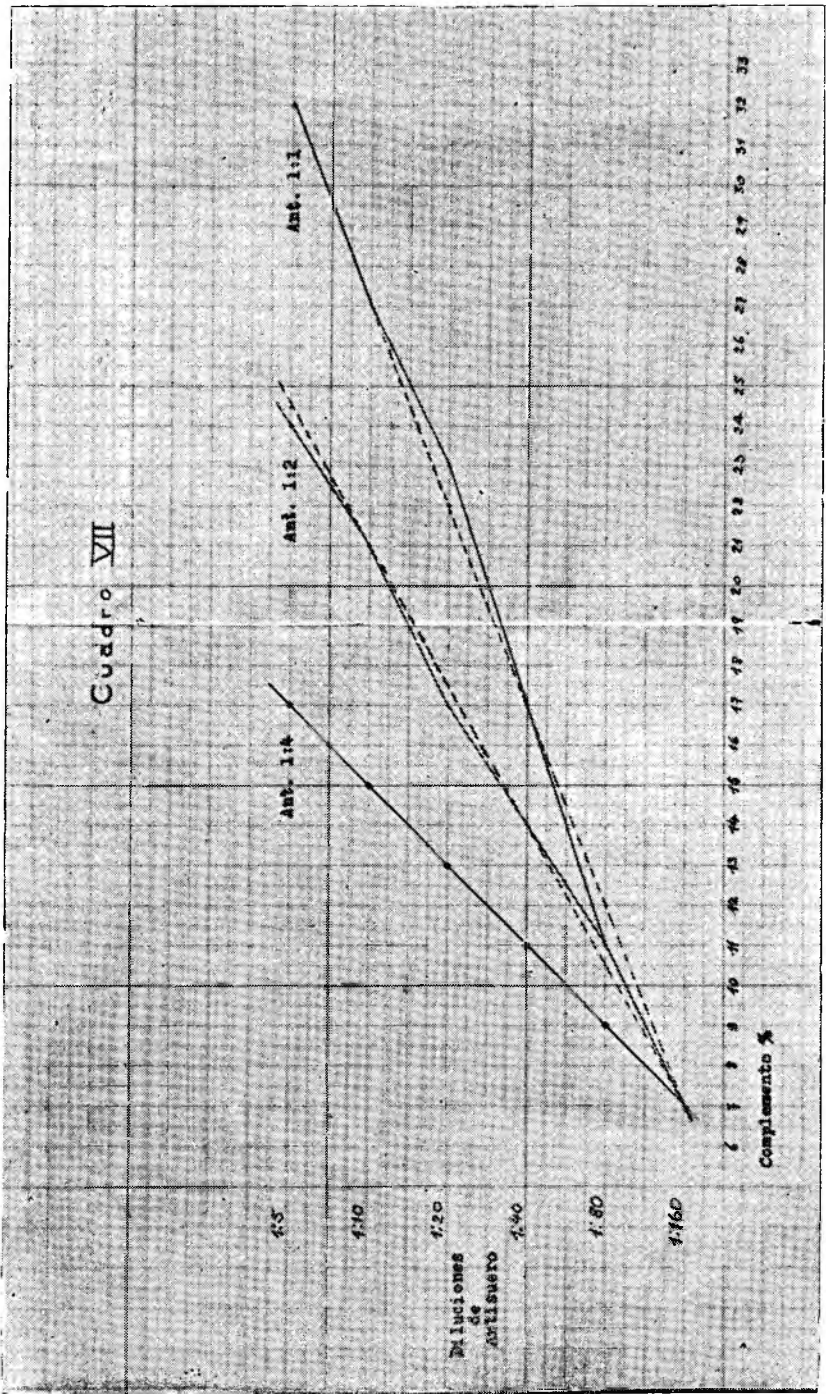
CUADRO Nº IV

	1:5	Dif.	1:10	Dif.	1:20	Dif.	1:40	Dif.	1:80	Dif.	1:160	Dif.
1:1	32	7,5	27	6	22	4,5	17	3	12	1,5	7	0
1:2	24,5		21		17,5		14		10,5		7	
1:4	17	7,5	15	6	13	4,5	11	3	9	1,5	7	0
Prom. Dif.		7,5		6		4,5		3		1,5		0

CUADRO Nº V

	1:5		1:10		1:20		1:40		1:80		1:160
1:1	32	5	27	5	22	5	17	5	12	5	7
	7,5	11	6	9,5	4,5	8	3	6,5	1,5	5	0
1:2	24,5	3,5	21	3,5	17,5	3,5	14	3,5	10,5	3,5	7
	7,5	9,5	6	8	4,5	6,5	3	5	1,5	3,5	0
1:4	17	2	15	2	13	2	11	2	9	2	7

CUADRO Nº VI



CUADRO N° VIII

Virus de la fiebre aftosa tipo «A»

Fijación de complemento por diferentes combinaciones de antígeno y antisuero.

Antígeno: Extracto al 25% de 6º pase de A 40, 1º pase de A215, 7º pase

de A40, A360, de cerdo y 8º pase de A40.

Suero: A 98 Nos. 7 y 8 mezclados.

Complemento: 1 UC = 5%. Se usó en la prueba al 6% (2 UC).

Dil. de Anti-suero.	Diluciones de Antígeno.					
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
1:5	###	###	##	#	T	-
1:10	###	###	#	ti	-	-
1:20	###	###	#	+	-	-
1:40	###	###.	ti	T	-	-
1:80	###.	##	ti	tr	-	-
1:160	##	ti	+	-	-	-
SC1	-					
SC2	###-					
AC1	-					
AC2	###					

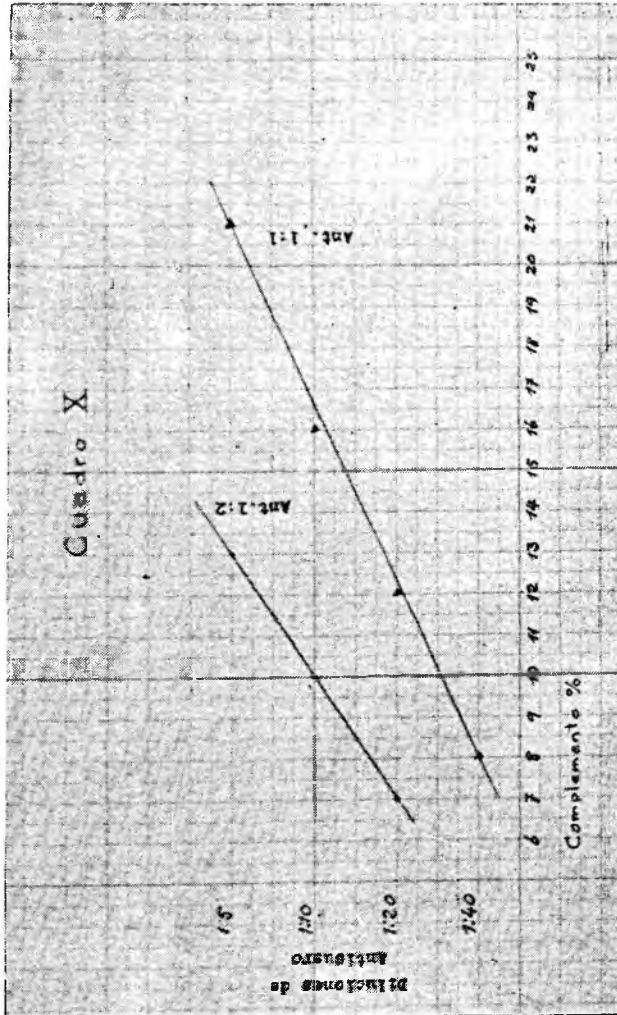
CUADRO Nº IX

a

Dil. de Anti-suero	Complemento %																
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1:5	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
1:10	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###			
1:20	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###						
1:40	###	###	###	###	###	###	###										

b

Dil. de Anti-suero.	Complemento %										
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1:5	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
1:10	###	###	###	###	###	###	###	###			
1:20	###	###	###	###	###						



	1:2	Dif.	1:1	Dif.
1:5	13		21	
		3		5
1:10	10		16	
		3		4
1:20	7		12	
Prom. Dif.		3		4,5

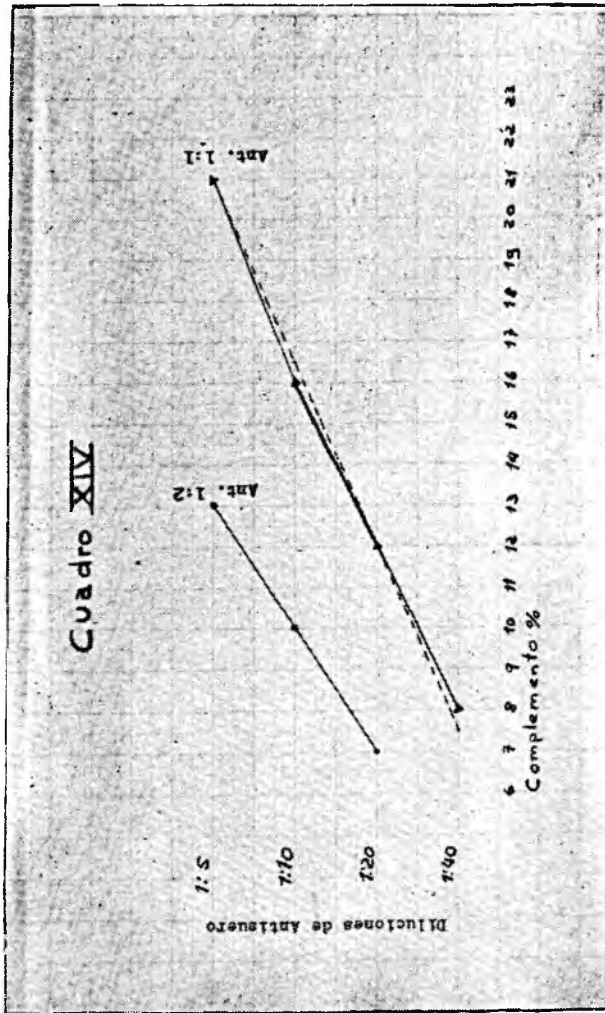
CUADRO Nº XI

	1:5	Dif.	1:10	Dif.	1:20	Dif.
1:1	21		16,5		12	
		8		6,5		5
1:2	13		10		7	
Prom. Dif.		8		6,5		5

CUADRO Nº XII

	1:5		1:10		1:20
1:1	21	4,5	16,5	4,5	12
	8	11	6,5	9,5	5
1:2	13	3	10	3	7

CUADRO Nº XIII



CUADRO N° XV

Virus de la estomatitis vesicular «New Jersey»

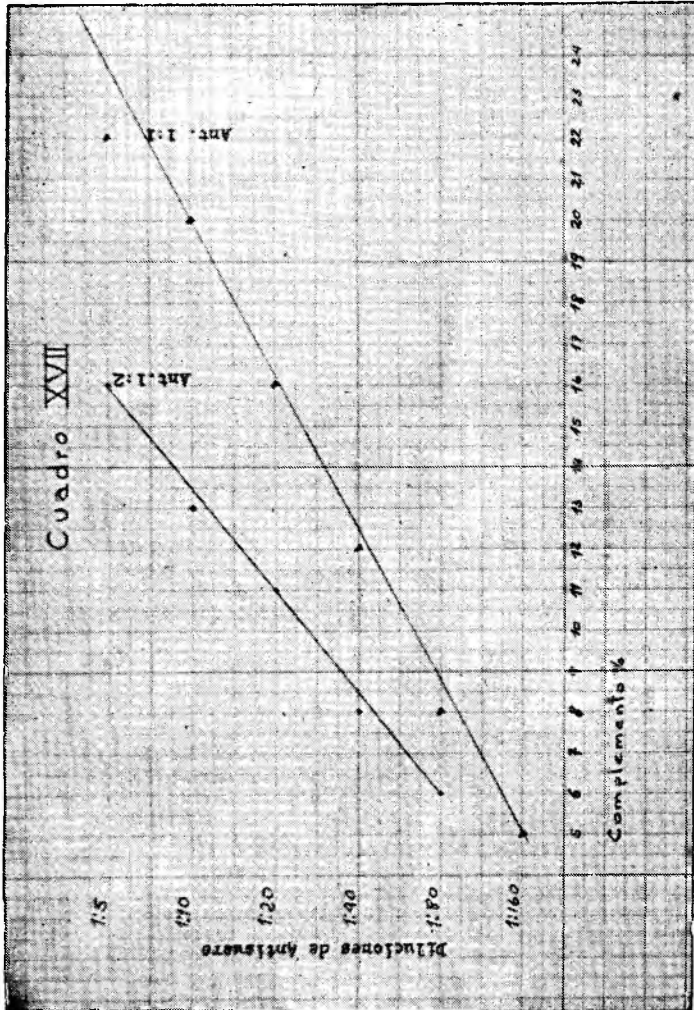
Fijación de complemento por diferentes combinaciones de antígeno y antisuero.

Antisuero: «NJ» N° 8 (colombiano).

Antígeno: Extracto al 20 % de embriones de pollo del 4º pase por huevo de la cepa «NJ» Ogden.

Complemento: Una unidad de complemento (1 UC) = 5%. Se usó en la prueba al 6% = 2 UC.

Diluc. de Antisuero.	Diluciones de Antígeno					
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
1:5	###	###	###	##	+	-
1:10	###	###	###	+	+	-
1:20	###	###	###	+	+	-
1:40	###	###	##	+	-	-
1:80	###	###	##	-	-	-
1:160	###	##	+	-	-	-
1:320	##	+	-	-	-	-
SC ₁	-					
SC ₂	###					
AC ₁	-					
AC ₂	###					



	1:2	Dif.	1:1	Dif.
1:5	16	3	22	2
1:10	13	2	20	4
1:20	11	3	16	4
1:40	8	2	12	4
1:80	6		8	
Promed. Difer.		2,5		3,5

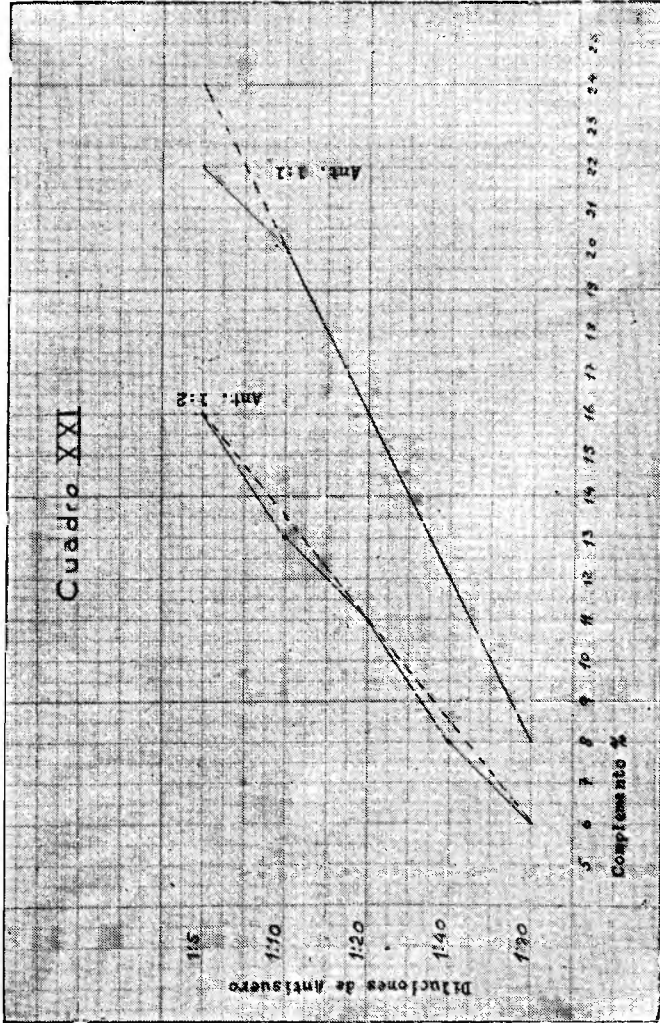
CUADRO Nº XVIII

	1:5	Dif.	1:10	Dif.	1:20	Dif.	1:40	Dif.	1:80	Dif.
1:1	24	8	20	6,5	16	5	12	3,5	8	2
1:2	16		13,5		11		8,5		6	
Prom. Dif.		8		6,5		5		3,5		2

CUADRO Nº XIX

	1:5		1:10		1:20		1:40		1:80
1:1	24	4	20	4	16	4	12	4	8
	8	10,5	6,5	9	5	7,5	3,5	6	2
1:2	16	2,5	13,5	2,5	11	2,5	8,5	2,5	6

CUADRO Nº XX



CUADRO N° XXII

Virus de la estomatitis vesicular «Indiana»

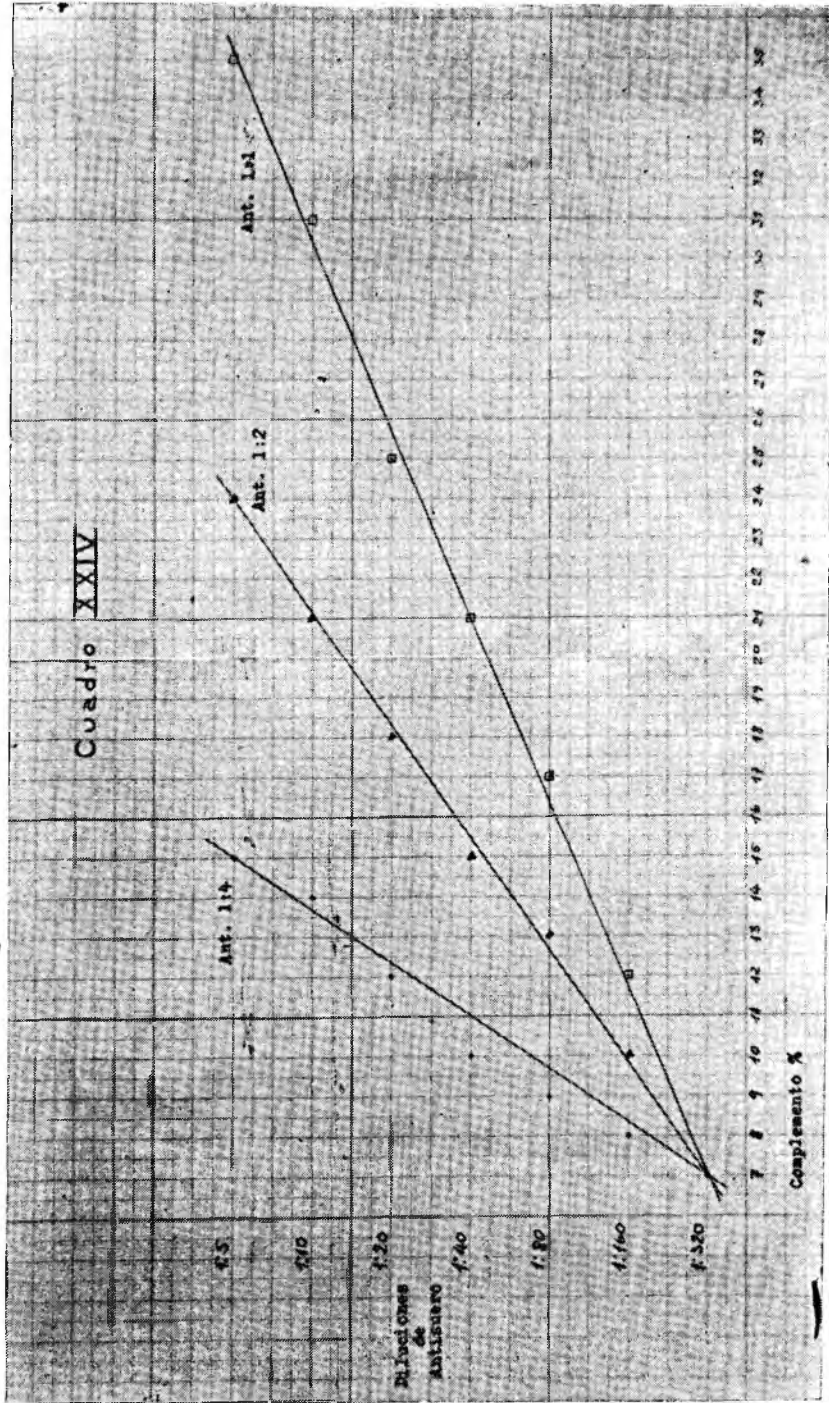
Fijación de complemento por diferentes combinaciones de antígeno y antisuero.

Antígeno: Extracto al 3,125% de membranas y embriones del 2º pase por huevo de la cepa «Ind» N° 121.

Antisuero: Indiana (colombiano).

Complemento: Una unidad de complemento (1 UC) = 6%. Se usó al 7%.

Diluc. de Antisue- ro.	Diluciones de Antígeno					
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
1:5	###	###	###	###	##	+
1:10	###	###	###	###	##	T
1:20	###	###	###	###	##	T
1:40	###	###	###	###	#	Tr.
1:80	###	###	###	###	#	Tr.
1:160	###	###	###	###	#	Tr.
1:320	###	###	###	##	#	Tr.
1:640	##	#	##	+	T	-
SC ₁	-					
SC ₂	###					
AC ₁	-					
AC ₂	###					



CUADRO N° XXV

	1:4	Dif.	1:2	Dif.	1:1	Dif
1:5	15		24		35	
		1		3		4
1:10	14		21		31	
		2		3		6
1:20	12		18		25	
		2		3		4
1:40	10		15		21	
		1		2		4
1:80	9		13		17	
		1		3		5
1:160	8		10		12	
		1		3		5
1:320	7		7		7	
Prom. Dif.		1,33		2,83		4,66

	1.5	Df	1.10	Df	1.20	Df	1.40	Df	1.80	Df	1.160	Df	1.320	Df
11	32,98		28,65		24,32		19,99		15,66		11,33		7	
		9		7,5		6		4,5		3		1,5		0
12	23,98		21,15		18,32		15,49		12,66		9,83		7	
		9		7,5		6		4,5		3		1,5		0
14	4,98		13,65		12,32		10,99		9,66		8,33		7	
P... D.		9		7,5		6		4,5		3		1,5		0

CUADRO N° XXVI

	1.5		1.10		1.20		1.40		1.80		1.160		1.320
11	32,98	4,33	28,65	4,33	24,32	4,33	19,99	4,33	15,66	4,33	11,33	4,33	7
	9	11,83	7,5	10,33	6	8,83	4,5	7,33	3	5,83	1,5	4,33	0
12	23,98	2,83	21,15	2,83	18,32	2,83	15,49	2,83	12,66	2,83	9,83	2,83	7
	9	10,33	7,5	8,83	6	7,33	4,5	5,83	3	4,33	1,5	2,83	0
14	14,98	1,33	13,65	1,33	12,32	1,33	10,99	1,33	9,66	1,33	8,33	1,33	7

CUADRO N° XXVII

