

## Naturaleza de la reacción de fijación del complemento

### I. - ASPECTOS CUANTITATIVOS DE SU MECANISMO (\*)

(Con 6 gráficos)

Por R. de PIROSKY, I. PIROSKY y S. de YALOV

En este trabajo exponemos los resultados obtenidos al estudiar un sistema fijador de complemento constituido por el antígeno glúcido-lípido de *Brucella* y anticuerpos contenidos en el suero de enfermos afectados de Brucelosis.

Esta reacción, ya estudiada en un trabajo anterior (1), ha sido realizada de acuerdo a la técnica siguiente:

*Antígeno*: complejo glúcido-lípido separado de bacterias del género *Brucella* (tipo Suis). Para los detalles de su preparación ver (1).

*Anticuerpo*: Sueros de enfermos afectados por brucelosis, inactivados a 56°C, durante 1/2 hora.

*Complemento*: Mezclas de sueros frescos de cobayos obtenidos por punción de corazón, diluido 1/10 con solución de NaCl al 0,9%. La dosis hemolítica mínima (d.h.m.) o unidad de complemento, se determina frente a la cantidad máxima de antígeno que será empleada en la reacción. La d.h.m. no varía aun cuando las cantidades de antígeno oscilen entre 100 y 0,048 de gama. Este título determinado antes de iniciar la reacción, se controla durante la marcha de la misma frente a la cantidad de suero empleada. Cuando se han utilizado hasta 24 unidades de complemento, la titulación previa de este último ha sido practicada frente a una cantidad equivalente de suero de cobayo inactivado. El complemento se titula con 0,5 c.c. de una suspensión de glóbulos rojos

(\*) Este trabajo ha sido comunicado a las « Reuniones del personal del Instituto », el 1º de julio de 1941.

de oveja al 10 %, sensibilizado por cinco unidades de amboceptor, durante cinco minutos a 37°C. Las reacciones se efectúan en baño de agua.

*Modus operandi*: 1. Se distribuye el complemento, igualándose el volumen con solución fisiológica. 2. Se añade 0,2 c.c. de la mezcla constituida por volúmenes iguales de diluciones preestablecidas de antígeno-anticuerpo. Cuando era necesario eliminar, antes de su empleo, la velocidad de reacción entre antígeno-anticuerpo, se llevó su mezcla al equilibrio por incubación a 37°C durante una hora. 3. Se añade sistema hemolítico. 4. A la media hora se procede a la centrifugación. 5. Los resultados se comparan con un patrón de una serie progresiva de diluciones de glóbulos rojos lisados con agua destilada.

Los aspectos cuantitativos de las dos fases de la reacción (1-complejo fijador y 2-fijación del complemento) se han analizado de acuerdo al orden siguiente:

- A. — Relación antígeno-anticuerpo.
- B. — Cinética de la reacción.
- C. — Naturaleza de la combinación del complejo fijador-complemento.

#### A. — RELACIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO

Al poner en contacto proporciones variadas de antígeno y anticuerpo, hemos observado sistemas con diferente afinidad para el complemento, de los cuales consideraremos, uno de proporciones óptimas, otro con exceso de antígeno y un tercero con exceso de anticuerpo.

a) La proporción óptima de antígeno-anticuerpo se caracteriza por su máxima afinidad para el complemento. Al reducir en 1/2 el anticuerpo, la cantidad de antígeno que determina el complejo fijador óptimo se reduce a la mitad, disminuyendo también en la misma proporción las unidades de complemento fijadas. Esta relación se cumple para sueros con diferentes títulos de anticuerpos.

Así, para suero 1/5, (Tabla N° I, gráfico N° 1) el complejo óptimo corresponde a 3,12 gamas de antígeno y para suero 1/10 el óptimo se halla en 1,56 gamas. En la última fila, donde el anticuerpo se halla en la proporción de 1/16 con respecto a la primera, la dosis de antígeno que da la proporción óptima es 1/16 de 3,12 gamas, hallándose la cantidad de unidades de complemento fijadas, reducidas en la misma proporción. En este último caso, el número de partículas de complejo óptimo por unidad de volumen

se halla reducido 1/16, sin que ello modifique su afinidad por el complemento. En la tabla N.º II, el suero D.L., en la dilución 1/1,25, fija 16 unidades de complemento frente a 6,25 gamas de

TABLA N.º I: Suero P. y TABLA N.º II: suero D.L. — Se consignan las unidades de complemento fijadas por los complejos obtenidos variando el antígeno y el anticuerpo. En cada fila horizontal con anticuerpo constante aparece un complejo con afinidad máxima.

Suero P. Diluciones:	Antígeno. Cantidades en gamas												
	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.195	0.0975	0.048	0.024
1/5 0.1 cc.	1/2	1	2	3	12	24	16	12	8	2	1	—	—
1/10 » »	1/4	1/2	1 3/4	4	6	10	12	8	6	3	1 3/4	1 1/2	—
1/20 » »	0	0	1/4	1/2	3/4	2 3/4	5 1/2	6 1/2	5 3/4	3	1 3/4	1	—
1/40 » »	0	0	0	0	— 1/4	1/2	1 1/2	2 3/4	3 3/4	2 1/2	1 1/2	1	—
1/80 » »	0	0	0	0	0	0	1/4	1/2	1	1 3/4	1 1/4	1	3/4

Suero D. L. Diluciones:	Antígeno ab. Cantidades en gamas									
	50	25	21.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.195	0.048
1/1.25 0.1 cc.	2	6	10	16	12	8	3	1	—	—
1/2.5 » »	1 3/4	2 1/2	4	6	8	6	3 3/4	1 3/4	—	—
1/5 » »	1/2	1/2	3/4	1 1/2	3	4	3	2	1 1/4	—
1/10 » »	0	0	0	1/4	1	1 1/2	2 1/4	1 1/2	1	1/2

antígeno, reduciéndose proporcionalmente a la dilución del suero, como en el caso anterior, la dosis de antígeno óptimo y las unidades de complemento fijadas.

Comparando ambas tablas, puede observarse que una misma dosis de antígeno puede adquirir una diferente capacidad de fijación de complemento. En la Tabla N.º II, 3,12 gamas de antígeno frente a suero D.L., diluído 1/2,5 fijan ocho unidades de complemento y en la Tabla N.º I, la misma cantidad de antígeno sensibilizado por suero P., diluído 1/5, adquiere la capacidad de fijar 24 unidades de complemento. Este hecho podría depender de la

multivalencia del antígeno o de la relación proteína específica a inespecífica de los sueros. Sería de interés estudiar esta clase de sistemas con anticuerpos purificados.

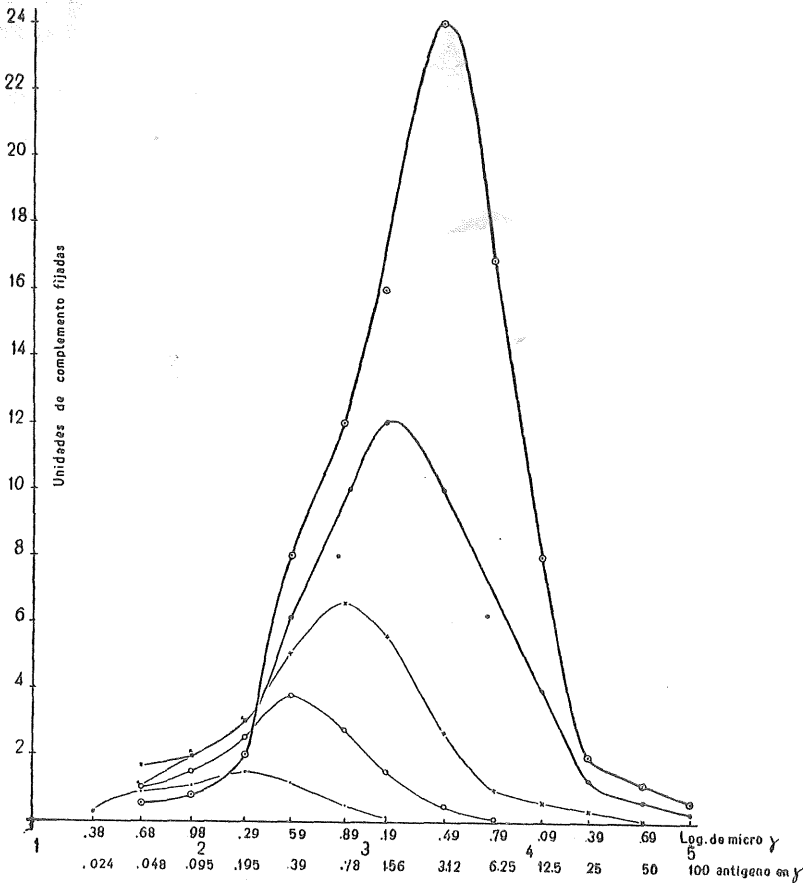


GRÁFICO N° 1. — Zonas de fijación y sus respectivos óptimos para variadas cantidades de anticuerpo y antígeno, según tabla N° 1.

Si consideramos las unidades de complemento fijadas por cada uno de los óptimos que aparecen en la Tabla N° I, y gráfico N° 1, podemos resumir las relaciones del antígeno, anticuerpo y complemento en esa zona, diciendo: Si  $F'$  representa las partículas fijadoras,  $C$  a las unidades de complemento, y  $[F']$  y  $[C]$  a las concentraciones activas de ambas, la relación de  $[F']/[C]$  en el óptimo, es una función lineal (Gráfico N° 2).

El límite de saturación del complejo fijador por el complemento, puede estudiarse, si se establece el 50 % de hemólisis como límite de la reacción.

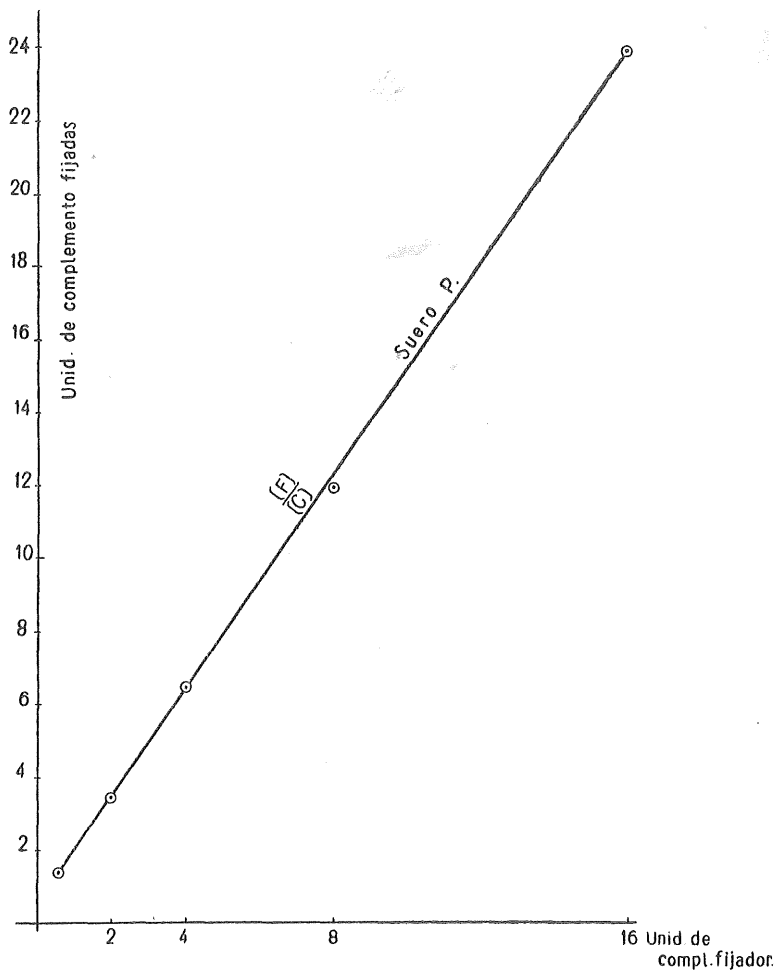


GRÁFICO N° 2. — Relación antígeno-anticuerpo y complemento en el óptimo, según tabla N° I

Así, para el caso de un sistema antígeno anticuerpo óptimo capaz de fijar  $7\frac{1}{2}$  unidades de complemento de 50 % de hemólisis y para el cual 8 unidades determinan vestigios de hemólisis, el exceso de complemento agregado es integralmente titulable, salvo en la iniciación del proceso. (Tabla N° III).

TABLA N<sup>o</sup> III. — A igual mezcla de antígeno-anticuerpo, distribuida repetidamente en una serie de tubos, se ha añadido complemento en forma creciente (de media en media dosis de 50 % de hemólisis). Para cada unidad de complemento, se ha observado la dispersión de los valores sobre cinco determinaciones y se ha tomado la media aritmética.

	Tubos % de hemólisis	Media	
		Observ.	Calcul.
A— Antig. 0.39 $\gamma$ Suero $\frac{1}{40}$ Compl. 7 $\frac{1}{2}$ unid. de 50 % hem.	0 0 0 0 0	0	—
B— Id. + 8 unidades » 50 » »	Vestigios de hemólisis		
C— Id. + 8 $\frac{1}{2}$ unidades » 50 » »	10 15 10 10 10	11	25
D— Id. + 9 unidades » 50 » »	40 30 45 30 30	35	36
E— Id. + 9 $\frac{1}{2}$ unidades » 50 » »	50 50 50 55 40	50	60
F— Id. + 10 unidades » 50 » »	90 90 86 60 85	82	85
Control de complemento: 1 dosis » 50 » »	45 55 40 40 40	45	50

b) En el sector de exceso de antígeno aparece un fenómeno zonal, como puede observarse en la Tabla N<sup>o</sup> I. Este podría ser debido a la circunstancia de hallarse el anticuerpo disperso en un excesivo número de partículas de antígeno, de tal modo que ninguna de ellas alcanza el umbral de sensibilización necesaria para fijar una unidad de complemento.

c) En la zona de exceso de anticuerpo la acción perturbadora de éste se traduce también por la aparición de un fenómeno zonal, bien manifiesto en las diluciones extremas de antígeno. En esta zona, a pesar de existir anticuerpo en concentración suficiente para sensibilizar todas las partículas de antígeno contenidas en cada mezcla, no se mantiene la relación entre las unidades de complemento y el complejo fijador. A su vez se observa un fenómeno zonal con antígeno constante. La columna de 0,195 gamas de la misma Tabla N<sup>o</sup> I, muestra que con  $\frac{1}{80}$  de suero fija  $1\frac{3}{4}$ , con  $\frac{1}{20}$ , tres y con  $\frac{1}{5}$  de suero fija dos unidades de complemento. (Gráfico N<sup>o</sup> 3).

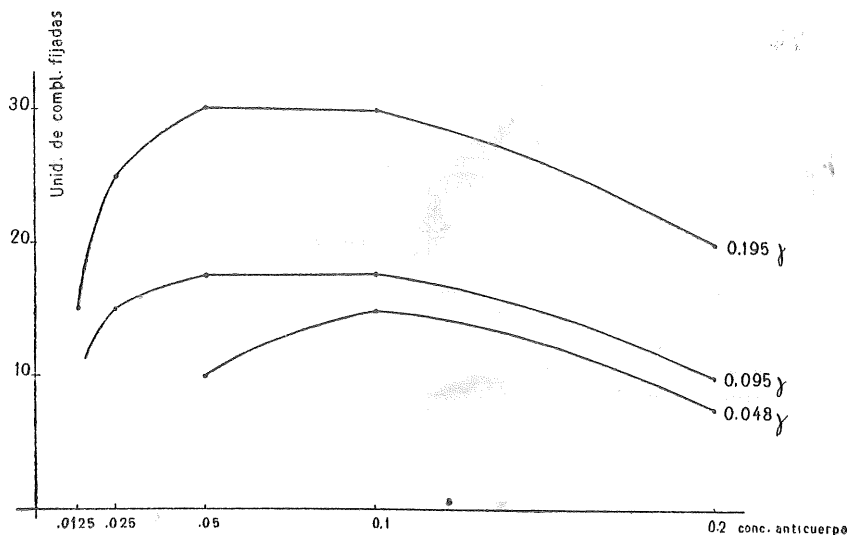


GRÁFICO N° 3. — Unidades de complemento fijadas con antígeno constante.

## B. — CINÉTICA DE LA REACCIÓN

La máxima afinidad de un complejo antígeno anticuerpo óptimo para el complemento se traduce también en la velocidad de reacción.

Si una unidad de complemento se añade a diversos complejos fijadores en equilibrio (incubación previa 1 hora a 37°C) capaces sólo de fijar una unidad, y se determina en diferentes tiempos el complemento libre por el grado de hemólisis, se observa que con anticuerpo constante la velocidad de fijación es mayor con la dosis de antígeno que constituye la mezcla óptima. Así, el 50 % de una unidad de complemento es fijada en veinte minutos por la mezcla óptima y sólo en cincuenta por la mezcla vecina. (Gráfico N° 4).

Este hecho se observa también cuando se añaden dosis crecientes de complemento a diversos complejos fijadores. Si, en una serie de cuatro complejos de anticuerpo constante y antígeno variable, distribuidos repetidamente tantas veces como dosis de complemento sea necesario agregar hasta llegar al límite de fijación, se determina el complemento libre en intervalos que varían de cinco a ochenta minutos, se observa que en tiempos iguales, es siempre la mezcla óptima la de mayor velocidad de reacción. Esta diferencia se acentúa con el tiempo de reacción y con la concentración de los complejos fijadores. (Gráfico N° 5).

La velocidad de reacción de esa mezcla óptima está expresada por

la curva del gráfico N° 6, que representa unidades de complemento fijadas en tiempos diferentes.

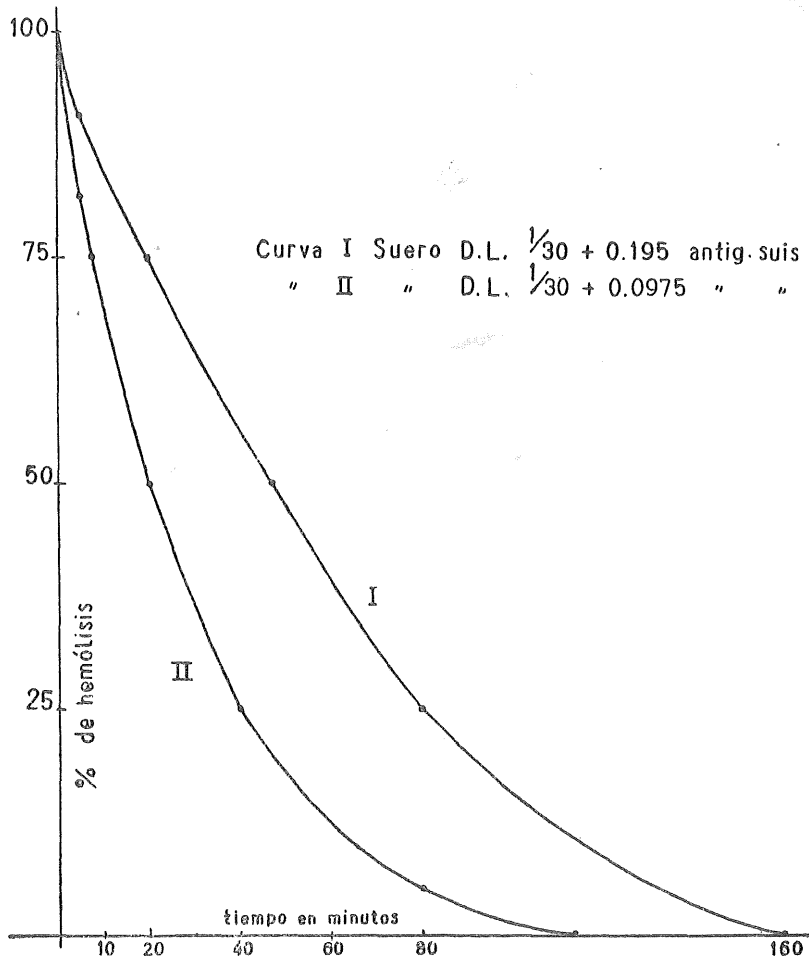


Gráfico N° 4. — Suero D. L. 1/30: Curva N° I con antígeno S, 0.195 gamas, y curva N° II con antígeno S, 0.0975 gamas.

En algunos sueros se observa una perturbación inicial en la curva que se acentúa cuando la reacción se realiza a temperaturas menores o se disminuye la concentración del complejo fijador.

Comparando la velocidad de fijación del complemento por una mezcla óptima a 10°C y a 37°C, se observa que el coeficiente de temperatura expresado por  $\frac{\Delta \text{complemento fijado}}{\Delta t}$ , oscila alrededor de la unidad.



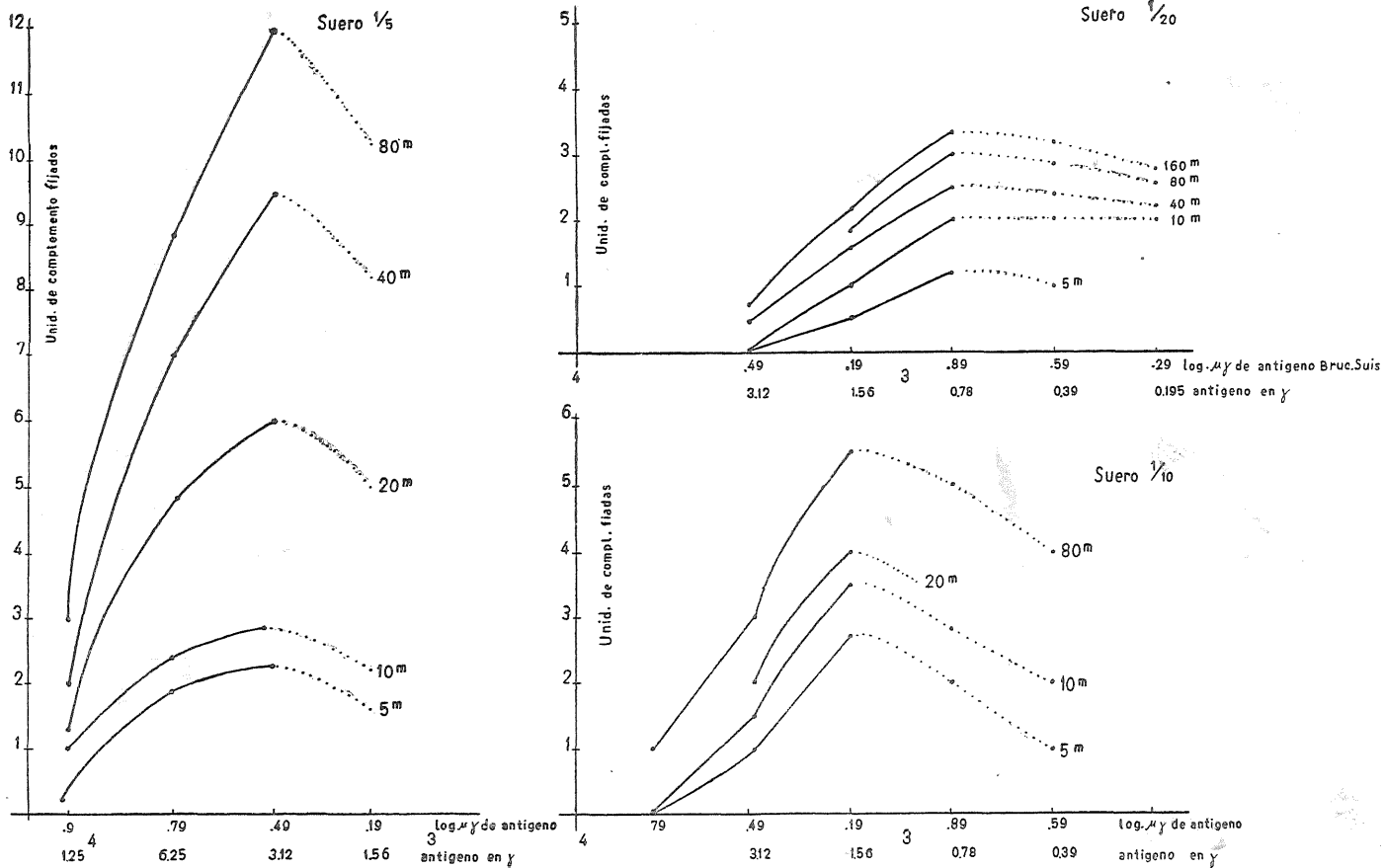


Gráfico N.º 5. — Velocidad de reacción de diversos complejos antígeno-anticuerpo con el complemento. Temperatura: 37° C.

Si se estudia este coeficiente para la mezcla óptima y para las mezclas vecinas, en el equilibrio (incubadas con el complemento durante noventa minutos a diferentes temperaturas) se constata que entre 5 y 37°C, su valor es pequeño, correspondiendo la cifra

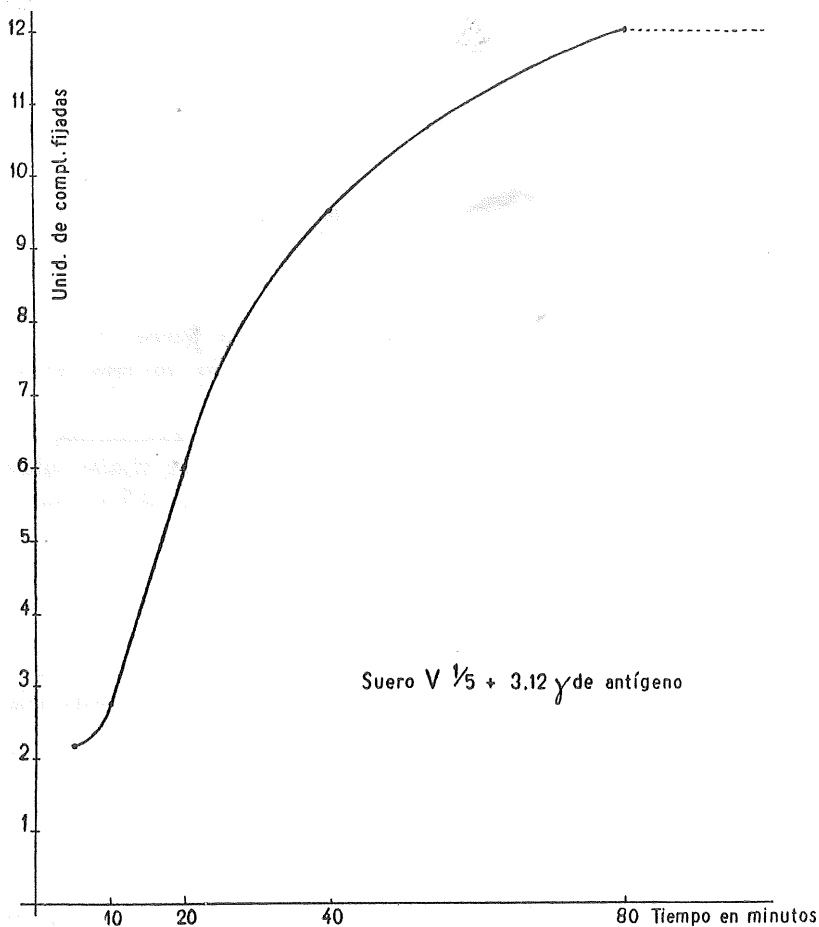


GRÁFICO N° 6. — Velocidad de reacción de un complejo óptimo con el complemento.  
Suero V. 1/5 + antígeno S, 3,12 gamas. Temperatura: 37° C.

más alta a la mezcla óptima. Entre 5 y 10°C, dicho coeficiente alcanza un valor de 4, indicando que en este intervalo de temperatura la influencia de este factor sobre la activación de la reacción es más importante. (Tabla N° IV).

TABLA IV

Suero V. 1/10 Antígenos en gamas	Coeficientes de temperatura entre			
	5°-10°	10°-20°	20°-30°	5°-37°
3.12	1	1.5	0.68	0.77
1.56	4	1.5	0.76	1.5
0.78	4	0.75	0.75	1.4
0.39	1	0.75	0.93	0.86

C. — NATURALEZA DE LA COMBINACIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO-COMPLEMENTO

El mecanismo por el cual el complemento de suero fresco de cobayo desaparece frente al antígeno sensibilizado no está determinado.

EAGLE (2) lo asimila a un proceso de adsorción. HAMBLETON (3) por otra parte, admite que el complemento puede ser fijado sobre antígeno sensibilizado por vía no específica. Este último autor encuentra que la fijación del complemento es irreversible, pues una vez fijado no se puede eluir ni desplazar de su combinación por aquellas concentraciones salinas que la inhiben cuando son agregadas previamente al sistema.

La naturaleza de la combinación del complejo antígeno-anticuerpo-complemento se ha investigado considerando: 1. La influencia del exceso de antígeno. 2. La influencia de la dilución.

1. — *Influencia del exceso de antígeno.* — El complemento que entra en reacción con una mezcla antígeno-anticuerpo no es desplazado de su combinación por un exceso de antígeno.

A dos sistemas paralelos A y B, se añade complemento hasta alcanzar el límite de fijación. Después de permanecer 1 hora a 37°C, se agrega al primero 500 gamas de antígeno contenidos en 0,5 c.c. y al segundo 0,5 c.c. de solución fisiológica. Al término de otra media hora de incubación, se completan los sistemas con glóbulos rojos sensibilizados.

Como puede notarse en la Tabla V, los resultados son prácticamente los mismos en ambos sistemas. (A tal efecto sólo han sido considerados los complejos de 1,56 y 0,78 gamas de antígeno, por hallarse en el límite de saturación).

Debe hacerse notar que la dosis de 500 gamas de antígeno no es anti-complementaria, ni fija el complemento frente a la cantidad de anticuerpo empleada en la reacción.

TABLA V

*Sist. A:* Unid. de compl. + (antíg. — anticuerpo) 1 h 37° + 500  $\gamma$  antíg. suis en 0.5 cc. 30 m 37° + glob. sens. ib

*Sist. B:* Unid. de compl. + (antíg. — anticuerpo) 1 h 37° + 0.5 cc. de sol. fisiológica 30 m 37° + glób. sensib.

## Lectura

Unidades de complemento	Suero P. $\frac{1}{10}$ 0.1 cc + antígeno. Cantidades en gamas			
	3.12	1.56	0.78	0.39
A.				
1	O	O	O	O
5	H	O	O	$\frac{3}{4}$ H
6	H	$\frac{1}{2}$ H	pH	H
7	H	H	H	H
B.				
1	O	O	O	O
5	H	O	O	CH
6	H	$\frac{1}{2}$ H	$\frac{1}{4}$ H	H
7	H	CH	H	H
<i>Controles:</i>			<i>Lectura</i>	
1 U. de compl. + 500 $\gamma$ de antígeno + 0.1 cc. suero $\frac{1}{10}$ .....			H	
1 U. de compl. + 500 $\gamma$ de antígeno .....			H	
1 » » + 0.1 cc. de suero $\frac{1}{10}$ .....			H	

H = hemólisis total; O = no hemólisis  
pH;  $\frac{1}{4}$  H;  $\frac{1}{2}$  H;  $\frac{3}{4}$  H = grados de hemólisis.

2. — *Influencia de la dilución.* — Ha sido estudiada investigando:  
a) El efecto del volumen sobre el grado de combinación, b) El efecto del volumen sobre la disociación del complejo fijador-complemento.

a) *Efecto del volumen sobre el grado de combinación.* — Cuando la combinación complejo fijador-complemento se realiza en volúmenes diferentes, se comprueba que en el sistema que se realiza en

la unidad de volumen (1,5 c.c.), se determina la hemólisis con 0,42 c.c. de complemento, mientras que el sistema realizado en 10 unidades de volumen (15 cm<sup>3</sup>) se requiere 0,48 cm<sup>3</sup>. Estos resultados se refieren al tubo óptimo.

Ahora bien, si se tiene en cuenta que en la unidad de volumen la dosis hemolítica de complemento es igual a 0,08 cm<sup>3</sup> y que para un volumen 10 veces mayor ella es de 0,24 cm<sup>3</sup>, resulta que la cantidad de complemento fijado en el primer caso es de 0,34 cm<sup>3</sup> y en el segundo es de 0,24 cm<sup>3</sup>. La diferencia de complemento fijado por el sistema en ambos volúmenes es de un 30 %.

Este resultado no se modifica si la dilución actúa en el momento de la combinación antígeno-anticuerpo-complemento o sobre la sensibilización del antígeno por el anticuerpo. (Tabla N° VI. Sistemas 2, 3 y 4).

TABLA VI.—Influencia del volumen sobre el grado de combinación del complemento. Las d.h.m. de complemento han sido determinadas para cada uno de los volúmenes finales, frente a la dosis de antígeno empleado. *Complejo fijador*: Suero P, 1/10, antígeno 1,56 gamas. En cada sistema, la mezcla antígeno-anticuerpo ha sido incubada previamente durante 1 hora a 37°C.

N°	Sistemas	d. h. m.	Cant. de compl. que da hemól.	Cant. de compl. fijado	
1	(Compl. + fisiol.) + (Antíg.-anticuerpo) Volumen final: 1,5 cc.	90 m a 37°	0.08	0.42	0.34
2	(Compl. + fisiol.) + (Antíg.-Anticuerpo) Volumen final: 15 c.c,	90 m a 37°	0.24	0.48	0.24
3	(Antig. + Antíc.) + (Sol. fisiol.) Volumen final: 15 c.c.	60 m a 37° C + compl. 90 m a 37°	»	»	»
4	(Antig. + Sol. fisiol. + Antíc.) Volumen final: 15 c.c.	60 m 37° C + compl. 90 m a 37°	»	»	»

La cantidad de complemento fijado por un sistema disminuye a medida que aumenta el volumen del mismo. (Tabla N° VII).

TABLA VII.—Influencia del aumento progresivo del volumen sobre el grado de combinación del complemento. *Complejo fijador*: Suero V, 1/5 - antígeno 1,56 gamas. Los elementos de la reacción se han dispuesto según se indica en el sistema N° 2 de la Tabla VI.

Volumen del sistema	d. h. m.	Cantidad de compl. que da hemólisis	Cantidad de compl. fijado
1.5 cc.	0.14	1.12	0.98
6 »	0.22	0.93	0.71
12 »	0.26	0.91	0.65

b) *Influencia del volumen sobre la disociación del complejo fijador-complemento.*—La dilución de un sistema (complejo fijador-complemento), previamente realizado en la unidad de volumen (1,5 c.c.) e incubado a 37°C durante 1 hora, libera una parte del complemento fijado.

En estos experimentos se realizan tres sistemas:  $\alpha$  (testigo),  $\beta$  y  $\gamma$ , (Tabla N° VIII); cada uno de ellos está constituido por tantos tubos como cantidades crecientes de complemento son necesarias agregar hasta alcanzar el límite de fijación. En los tres sistemas, la combinación complejo fijador-complemento se efectúa en el volumen de 1,5 c.c. durante 1 hora a 37°C. Al fin de este término, se agrega solución fisiológica para completar el volumen deseado en las series correspondientes a  $\beta$  (6 cm<sup>3</sup>) y a  $\gamma$  (12 cm<sup>3</sup>) y se prolonga la incubación por una hora más. La d.h.m. de complemento se determina para cada volumen final con el tiempo máximo de incubación de cada experimento.

TABLA VIII.—*Complejo fijador*: Suero V, 1/5 - antígeno 1,56 gamas. Cantidad de complemento fijado cuando el sistema es previamente incubado en la unidad de volumen (1,5 c.c.) y es luego diluido a diferentes volúmenes.

Volumen del sistema	d. h. m.	Cantidad de compl. que da hemólisis	Cantidad de compl. fijado
$\alpha$ — 1.5 cc.	0.14	1.12	0.98
$\beta$ — 6 »	0.22	1.10	0.88
$\gamma$ — 12 »	0.26	1.04	0.78

Si la mezcla antígeno-anticuerpo-complemento, combinada en la unidad de volumen (1,5 cm<sup>3</sup>) durante 1 hora a 37°C se diluye a un volumen 4-8 ó 12 veces mayor, se comprueba que la cantidad de complemento necesaria para determinar la hemólisis puede ser igual, menor o mayor a la empleada en el volumen inicial. Ahora bien, si se tiene en cuenta el valor de la d.h.m. en cada uno de los casos considerados ( $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  - Tablas N° VIII y IX) y se deduce este valor de la cantidad absoluta que produce hemólisis en cada sistema, se verifica que cuando el sistema, en las condiciones indicadas, pasa de 1 a 12 volúmenes, parte del complemento fijado aparece activo. Debe aceptarse que en los sistemas  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ , la d.h.m. se halla integrada parcial o totalmente a base del complemento disociado.

En experimentos realizados con complejos fijadores óptimos de diferentes sueros y con distintas muestras de complemento, esta disociación parcial llega hasta un 30 % de la cantidad fijada en la unidad de volumen (1,5 c.c.).

Por tanto, el estudio del efecto de la dilución sobre el sistema complejo fijador-complemento demuestra que la fijación de este último es un proceso parcialmente reversible.

TABLA IX

Volumen del sistema	d. h. m.	Cantidad de compl. que da hemólisis	Cantidad de compl. fijado
$\alpha = 1.5$ cc.	0.14	0.60	0.46
$\delta = 18$ »	0.48	0.80	0.32

## CONSIDERACIONES

En el sistema de fijación de complemento analizado por nosotros existe una relación óptima de antígeno-anticuerpo con máxima afinidad para el complemento, que no se altera cuando la concentración del complejo fijador varía entre 1 y 16. Por tanto la reacción, en los límites estudiados, se opera de acuerdo a una relación estequiométrica.

Ahora bien, el estudio de la relación cuantitativa entre el complejo fijador óptimo y el complemento, así como la investigación de la influencia de la temperatura, demuestran que el proceso se realiza más bien de acuerdo a las características propias de las reacciones de afinidad específica. En efecto, 1): el número de

unidades de complemento fijadas por distintas mezclas con anticuerpo constante, es mayor en tiempos iguales, para una mezcla óptima. 2): El proceso de la fijación en diferentes tiempos indica que la mayor velocidad de transformación se halla entre cinco y treinta minutos para sistemas que alcanzan su equilibrio en ochenta minutos. 3): Si bien entre 5 y 37°C, el coeficiente de temperatura para la mezcla óptima es pequeño, entre 5 y 10°C, éste alcanza un valor que podría corresponder al tipo indicado de reacción.

Por otra parte, el estudio de la disociación del complemento del complejo antígeno-anticuerpo-complemento, nos ha permitido analizar la naturaleza del proceso de la fijación en sí. El complemento fijado sobre antígeno sensibilizado en un volumen de 1,5 c.c. es disociado hasta un 30 % cuando el sistema se diluye en doce veces su volumen inicial. Este valor es próximo aunque siempre menor a la cantidad de complemento que queda sin entrar en reacción cuando el proceso se realiza en el volumen máximo considerado.

Por último, tanto la relación  $\frac{1}{c}$ , (siendo  $c$  la concentración del complemento en diferentes tiempos) cuyos valores ya sabemos por experimentos preliminares, que tienden a ordenarse, con respecto al tiempo, en una progresión ascendente, como el tiempo de media transformación, que nos permitirían dilucidar la cinética de la reacción así formulada, serán considerados en otro trabajo.

Dentro de las estrictas limitaciones que impone el hecho de haber utilizado un antígeno de naturaleza particular, nuestros resultados nos permiten considerar el mecanismo de la fijación del complemento como regido por fuerzas de afinidad específica.

Consideramos que la continuación del estudio de los aspectos cuantitativos de esta reacción, extendidos a otros antígenos similares, contribuirá a aclarar la naturaleza del desgaste del complemento que BORDET y GENGOU (<sup>4</sup>) establecieron como característica de las reacciones antígeno-anticuerpo « in vitro ».

#### BIBLIOGRAFIA

1. PIROSKY IG, PIROSKY R. DE, D'ALESSANDRO. *Rev. Inst. Bact.* (D.N.H.), 1941.
2. EAGLE, H. *The Journal of Gen. Phys.*, 1928, 29-XII, 825.
3. HAMBLETON, A. *Canadian Journ. of Research.*, 1932-VII, 596.
4. BORDET y GENGOU. *Ann. Inst. Pasteur*, 1901-XV, 289.  
GENGOU. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1902-XVI, 734.