

Naturaleza de la reacción de fijación del complemento

II. - Influencia del fraccionamiento de los reactivos sobre el equilibrio del sistema

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

Al analizar en un trabajo anterior ⁽¹⁾ algunos aspectos cuantitativos de la reacción de fijación del complemento, hemos considerado: 1, la influencia de las relaciones mutuas de antígeno-anticuerpo sobre el grado de combinación del complemento; 2, acción del exceso de antígeno sobre el producto de la reacción (complemento-complejo fijador); 3, efecto de la dilución sobre la combinación complejo fijador-complemento; y 4, cinética de la reacción. Pudimos entonces, en lo que concierne a la combinación del complemento con el antígeno sensibilizado, deducir que el grado de esta combinación depende siempre de la relación antígeno-anticuerpo. Además verificamos la existencia de mezclas de antígeno-anticuerpo de naturaleza particular, esto es, caracterizadas por su máxima capacidad de fijación, por su máxima velocidad y por el hecho de que en este caso el proceso de fijación obedece a leyes de afinidad específica no perturbadas por el estado de dispersión coloidal de los reactivos que constituyen el sistema.

En el presente trabajo hemos creído necesario investigar desde el punto de vista cuantitativo la influencia de la adición fraccionada de los reactivos sobre el equilibrio final del sistema, pues nos ha parecido que este método permitiría poner de manifiesto la intervención en el mecanismo de la reacción de fenómenos debidos al estado de dispersión de las sustancias que integran el sistema.

Para ello hemos utilizado el complejo fijador óptimo (*). Una

(*) Complejo fijador óptimo es la mezcla antígeno anticuerpo capaz de fijar mayor dosis de complemento.

vez determinada la cantidad de complemento que este complejo fija cuando la reacción alcanza el equilibrio, se estudió si puede obtenerse dicho valor cuando las mismas cantidades de los integrantes de la reacción (complejo fijador por una parte y complemento por otra) son puestos en contacto fraccionadamente.

Con este objeto fué necesario realizar tres experimentos: uno testigo —1.— en el cual las cantidades de los reactivos se ponen en contacto de una sola vez; otro —2.— en el cual la cantidad total de complejo fijador se adiciona fraccionadamente al volumen total de complemento y un experimento último —3.— en el cual la cantidad total de complemento se adiciona fraccionadamente al volumen total de complejo fijador.

MATERIAL

Antígeno. — Complejo glúcido lípido separado de bacterias del género *Brucella*, tipo suis, cepa 305, según técnica de Boivin y Mesrobianu y con las características ya indicadas en el trabajo citado (¹).

Anticuerpo. — Sueros humanos de brucelosos en actividad o convalecientes, producidos por coagulación espontánea de la sangre, inactivados a 56°C durante treinta minutos y seleccionados considerando su alto título en anticuerpo fijador de complemento (*).

Complemento. — Sangre de cavia obtenida por punción de corazón dejada una hora en cámara fría y otra a 37°C para su coagulación. Se mezcla el suero obtenido de la sangre de por lo menos seis cavia. La mezcla se diluye 1/10 con solución de Na Cl al 0,9 % y se la mantiene en cámara fría a 0°-2°C. Se determina la dosis hemolítica mínima (d. h. m.) frente a la mayor concentración de antígeno a ser utilizada en la reacción. La d. h. m. así determinada se corrige en cada reacción con respecto a la cantidad de suero que entra en la formación del complejo fijador empleado. Todos los sistemas comparados entre sí son realizados en el día con la misma solución de complemento.

Sistema hemolítico. — Los glóbulos sensibilizados se preparan mezclando volúmenes iguales de una suspensión al 20 % de glóbulos rojos de carnero y 20 dosis hemolíticas de amboceptor, de

(*) Debemos este material a la gentileza del Dr. E. A. Molinelli, jefe de la Sección Estudios Epidemiológicos del Instituto.

manera que 0,5 c.c. de la mezcla contienen 5 unidades de amboceptor y glóbulos rojos al 5 %. El indicador se sensibiliza durante cinco minutos a 37°C en baño de agua.

MÉTODO

1. *Experimento testigo*.— En una serie de tubos se distribuye 0.2 c.c. de una mezcla constituida por volúmenes iguales de antígeno-anticuerpo en concentraciones tales que corresponden a un complejo fijador óptimo. Se agrega a cada tubo cantidades crecientes de complemento, completando a volumen con solución de NaCl al 0.9 %.

2. *Experimento de complejo fijador fraccionado*.— En una serie de tubos se distribuye cantidades crecientes de complemento; se completa a volumen constante con solución de NaCl al 0.9 %. La cantidad de complejo fijador (0.2 c.c.) se fraciona en cuatro partes que se adicionan sucesivamente a intervalos de quince minutos.

3. *Experimento del complemento fraccionado*.— En una serie de tubos se pone 0.2 c.c. de complejo fijador y se agregan los volúmenes de complemento correspondientes a los tubos del experimento testigo, pero fraccionados en cuatro partes iguales, cada una adicionada con un intervalo de quince minutos. Después de la adición de la última fracción se completa a volumen con solución de NaCl al 0.9 %.

En los tres experimentos indicados los tubos se mantienen a 37°C en baño de agua. Al finalizar el tiempo de incubación en cada tubo se pone 0.5 c.c. de glóbulos rojos sensibilizados prolongándose la incubación treinta minutos. En este momento se hace la lectura utilizándose como índice de saturación del complejo fijador por el complemento la aparición de hemólisis (*).

RESULTADOS

Los protocolos transcritos en la tabla I permiten apreciar cabalmente los diferentes valores obtenidos utilizando el método de la adición fraccionada de los reactivos cuando el experimento tiene una duración total de sesenta minutos.

(*) La utilización de poca hemólisis (pH) como índice de lectura nos ha dado en el desarrollo de nuestros experimentos resultados comparables a los que suministra el empleo del 50 % de hemólisis como punto de referencia.

En la tabla I se detallan los resultados obtenidos en la fijación del complemento por una mezcla de 0,02 c.c. de suero S. A. y 3,12 gamas de antígeno según que los reactivos hayan sido puestos en contacto de una sola vez y fraccionadamente y se resumen en la tabla II.

TABLA II. — *Resumen del protocolo N° 72 de la tabla I. Cantidad de complemento fijado por un mismo complejo fijador en reacciones realizadas según experimento 1, 2 y 3*

<i>Complejo fijador</i>	<i>Suero:</i> 0,02 c.c.
	<i>Antígeno:</i> 3,12 gamas
1: Experimento testigo	1,90
2: » de complejo fijador fraccionado	1,50
3: » de complemento fraccionado	1,0

En un experimento de sesenta minutos de duración (tabla II) la cantidad de complemento fijada por un mismo complejo fijador varía según la forma de agregar los reactivos. En los experimentos 2 y 3 dicha cantidad es menor que en el experimento 1 (testigo).

Ahora bien, según ya hemos demostrado ⁽¹⁾ la cantidad de complemento fijada por la *unidad* de complejo fijador óptimo no cambia al variar la concentración de los reactivos entre los límites estudiados (1 a 16).

Por tanto convenía determinar si las diferencias anotadas en la tabla I se mantienen cuando varía la concentración de los integrantes de la reacción. Para ello hemos realizado los mismos experimentos 1 (testigo), 2 (complejo fijador fraccionado) y 3 (complemento fraccionado) con complejos fijadores cuya concentración varía con una razón de 1/2. Con este propósito, se estudian en el protocolo N° 73, tabla III, pág. 358, los sistemas *A*, *B* y *C*, en los cuales la concentración de los reactivos es: en *A*, 0,04 c.c. de suero A. S. + 1,56 gamas de antígeno; en el *B*, 0,02 c.c. de suero + 0,78 gamas de antígeno, y en *C*, 0,01 c.c. de suero + 0,39 gamas de antígeno.

Puede apreciarse que las diferencias anotadas en la tabla I entre la cantidad de complemento fijada por un mismo complejo fijador según que los reactivos se pongan en contacto de una vez o fraccionadamente se mantienen también en el caso de variar la con-

TABLA I. — *Protocolo N° 72. Cantidad de complemento fijado por un mismo*

[illegible]

complejo fijador en reacciones realizadas según experimento 1, 2 y 3.

0,02 cc. de suero

3,12 gamas de antígeno

Experimento 2: Complejo fijador fraccionado

1,40 **1,50** 1,60 1,70 1,80 1,90 2,0 2,10 2,20 2,30 2,40

0,05 cc. de complejo fijador en cada tubo, en los tiempos indicados.

0,80 0,70 0,60 0,50 0,40 0,30 0,20 0,30 —

hemolítico

O O $\frac{3}{4}$ H H H H H H H H

Experimento 1: Testigo

Comple- mento $\frac{1}{10}$ -cc.	Soluc. fisiol.		Lectu- ra
1,40	0,8	0,2 cc. de complejo fijador; 1 hora contacto a 37° Sistema hemolítico 37°	O
1,50	0,7		O
1,60	0,6		O
1,70	0,5		O
1,80	0,4		O
1,90	0,3		O
2,0	0,2		$\frac{1}{2}$
2,10	0,1		$\frac{3}{4}$
2,20	—		H

1 D. H. m. = 0,12 cc.

TABLA III. — Protocolo N° 73. — Cantidad de complemento fijado por un mismo complejo fijador cuando

Protocolo N° 73		Complejo fijador en 0,2 cc.													
Suero: A. S.															
		Experimento 3: Complemento fraccionado													
Volumen final de complemento c.c.		0,60	0,70	0,80	0,90	1,0	1,10	1,20	1,30	1,40	1,50	1,60	1,70	1,80	2,0
	0 ^m	0,15	0,20	0,20	0,30	0,25	0,30	0,30	0,35	0,35	0,40	0,40	0,45	0,45	0,50
	15 ^m	0,15	0,15	0,20	0,20	0,25	0,25	0,30	0,35	0,35	0,35	0,40	0,40	0,45	0,50
	30 ^m	0,15	0,15	0,20	0,20	0,25	0,30	0,30	0,30	0,35	0,40	0,40	0,45	0,45	0,50
	45 ^m	0,15	0,20	0,20	0,20	0,25	0,25	0,30	0,30	0,35	0,35	0,40	0,40	0,45	0,50
Sol. fisiológica .		1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	—
60 ^m															Sistema
90 ^m Lectura de hemólisis .		0	0	0	0	¾	H	H	H	H	H	H	H	H	H
		Complejo fijador en 0,2 cc.													
Volumen final de complemento c.c.		0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0	1,10				
	0 ^m	0,05	0,10	0,10	0,15	0,15	0,20	0,20	0,25	0,25	0,30				
	15 ^m	0,05	0,10	0,10	0,15	0,15	0,20	0,20	0,25	0,25	0,30				
	30 ^m	0,05	0,05	0,10	0,10	0,15	0,15	0,20	0,20	0,25	0,25				
	45 ^m	0,05	0,05	0,10	0,10	0,15	0,15	0,20	0,20	0,25	0,25				
Sol. fisiológica .		1,8	1,7	1,6	1,5	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,9				
60 ^m												Sistema			
90 ^m Lectura de hemólisis ..		0	0	pH	¾	H	H	H	H	H	H				
		Complejo fijador en 0,2 cc.													
Volumen final de complemento c.c.		0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80						
	0 ^m	0,025	0,05	0,05	0,10	0,10	0,15	0,20	0,20						
	15 ^m	0,025	0,05	0,10	0,10	0,15	0,15	0,20	0,20						
	30 ^m	0,025	0,05	0,10	0,10	0,15	0,15	0,15	0,20						
	45 ^m	0,025	0,05	0,05	0,10	0,10	0,15	0,15	0,20						
Sol. fisiológica .		1,9	1,8	1,7	1,6	1,5	1,4	1,3	1,2						
60 ^m										Sistema					
90 ^m Lectura de hemólisis ..		0	0	½	H	H	H	H	H						

sus concentraciones varían en razón de $\frac{1}{2}$, en reacciones realizadas según experimentos 1, 2 y 3

0,04 cc. de suero
1,56 gamas de antígeno

Experimento 2: Complejo fijador fraccionado														Experimento 1: Testigo			
0,60	0,70	0,80	0,90	1,10	1,20	1,30	1,40	1,50	1,60	1,70	1,80	1,90	2,0	Comple- mento Soluc. 1/10 cc. fisiol.	0,2 de complejo fijador 1 h de contacto a 37° Sistema hemolítico a 37°	Lec- tura	
0,05 cc. de complejo fijador en cada tubo en los tiempos indicados														1,20		0,8	0
														1,30		0,7	0
														1,40		0,6	0
														1,50		0,5	0
														1,60		0,4	0
														1,70		0,3	1/2
														1,80		0,2	H
														1,90		0,1	H
														2,0		—	H
														hemolítico			
0	0	0	0	0	0	0	H	H	H	H	H	H					

0,02 de suero
0,78 de antígeno

0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0	1,10	1,20			0,2 cc. de complejo fijador 1 h. de contacto a 37° Sistema hemolítico a 37°	pH	
0,05 cc. de complejo fijador en cada tubo en los tiempos indicados											0,50	1,5			0
											0,60	1,4			0
											0,70	1,3			0
											0,80	1,2			
											0,90	1,1			H
											1,0	1,0			H
											1,10	0,9			H
hemolítico											1,20	0,8	H		
0	0	0	0	1/4	H	H	H	H	H	H	1 d. h. m. = 0,12 cc.				

0,01 cc. de suero
0,39 gamas de antígeno

0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80			
0,05 cc. de complejo fijador en cada tubo en los tiempos indicados.							0,20	1,8	0
							0,30	1,7	0
							0,40	1,6	1/4
							0,50	1,5	H
							0,60	1,4	H
							0,70	1,3	H
							0,80	1,2	H
hemolítico							0,2 cc. de complejo fijador 1 h. de contacto a 37° Sistema hemolítico a 37°		
0	1/4	H	H	H	H	H	1 d. h. m. = 0,12 cc.		

centración de los integrantes de la reacción. Los valores obtenidos en los experimentos de la tabla III se resumen en la tabla IV.

TABLA IV. — (Resumen del protocolo N° 73, tabla III). Cantidad de complemento fijado por un mismo complejo fijador cuando sus concentraciones varían en razón de $\frac{1}{2}$, en reacciones realizadas según experimentos 1, 2 y 3.

Complejo fijador	Suero: 0,04 c.c. Antígeno: 1,56 gamas	0,02 c.c. 0,78 gamas	0,01 c.c. 0,39 gamas
1: Experimento testigo.	1,60	0,80	0,40
2: » de complejo fijador fraccionado	1,30	0,60	0,30
3: Experimento de complemento fraccionado	0,90	0,40	0,25

La lectura de estos protocolos sugiere que las diferencias anotadas pueden estar condicionadas por el tiempo que dura la reacción (sesenta minutos). En efecto, en el experimento 2 (complejo fijador fraccionado) y en el 3 (complemento fraccionado) la última fracción adicionada en cada caso, sólo puede intervenir en la reacción durante quince minutos antes de agregarse el sistema hemolítico y dadas las características de la marcha del desgaste del complemento por un complejo fijador óptimo en el cual la mayor parte de los reactivos son transformados en los primeros treinta minutos, la última fracción se halla en presencia de concentraciones menores que la fracción agregada inicialmente y es lógico suponer que la velocidad de reacción en estas condiciones decrece debido a que en este momento gran parte de los integrantes de la reacción ya se han modificado.

Para establecer si las diferencias observadas en cuanto a la cantidad de complemento fijada entre el experimento testigo 1 y los experimentos 2 y 3, se deben a una diferencia entre la velocidad de reacción inicial y final o a una diferencia en el mecanismo del proceso condicionado por el agregado de los reactivos en forma fraccionada, determinamos el valor del complemento fijado en cada experimento en función del tiempo. Para ello, se realizan los tres experimentos por triplicado, a fin de disponer en cada caso de tres sistemas con diferente duración: a) de 60, b) de 120, y c) de 180 minutos. En esta forma, al prolongar el tiempo de

contacto de las últimas fracciones agregadas (15 minutos en el sistema *a*), 75 y 135 minutos en los sistemas *b*) y *c*) respectivamente), la reacción podrá alcanzar el equilibrio a pesar de la menor concentración de los reactivos.

En la tabla V se transcribe el protocolo N° 75 en el cual se ha determinado la cantidad de complemento que fija una mezcla antígeno-anticuerpo en reacciones que duran sesenta, ciento veinte y ciento ochenta minutos, realizadas según experimento testigo, experimento 2 (complejo fijador fraccionado) y 3 (complemento fraccionado).

Si consideramos que el valor de *una unidad* de complemento medida como dosis hemolítico mínima es de 0,10 c.c. en el sistema que dura 60 minutos y de 0,11 y 0,115 c.c. en los de 120 y 180 minutos, la sustancia activa para la hemólisis sufre una atenuación de 10 y 15 % respectivamente. Transformando de acuerdo a esta atenuación los valores del protocolo N° 75 obtendremos como sustancia activa de complemento fijada (en cuanto a la hemólisis) las cantidades que se indican en la tabla VI.

TABLA VI. — *Resumen del protocolo N° 75 de la tabla V. Cantidad de complemento fijada en sustancia activa en los experimentos 1, 2 y 3, en tiempos diferentes.*

<i>Complejo fijador</i>	Suero: 0.01 c.c. Antígeno: 3.12 gamas		
	Duración de los sistemas en minutos		
	60	120	180
1: Experimento testigo	1,60	1,80	1,87
2: » de complejo fijador fraccionado	1,20	1,62	1,79
3: » de complemento fraccionado .	1,0	1,44	1,53

Es evidente que la cantidad de complemento fijada en el experimento testigo 1 cuando la reacción dura 120 minutos, sólo es gastada en el experimento 2 (complejo fijador fraccionado) cuando el proceso se prolonga por 180 minutos. En cambio en el experimento 3 la cantidad de complemento fijado es notablemente menor. Considerando en cada experimento, los incrementos de la fijación entre los tiempos anotados expresándolos en fracciones de la cantidad previamente fijada (por ciento), los valores relativos anotados en la tabla VII indican que en el experimento testigo el

TABLA V. — *Protocolo N° 75*

Protocolo N° 75		Complemento fijador en 0,2 cc.															
Suero: J. B.		Experimento 3: Complemento fraccionado															
Volumen final de complemento c.c.		0,80	0,90	1,0	1,10	1,20	1,30	1,40	1,50	1,60	1,70	1,80	1,90	2,0	2,10	2,20	
	0 ^m	0,20	0,25	0,25	0,30	0,30	0,35	0,35	0,40	0,40	0,45	0,45	0,45	0,50	0,55	0,55	
	15 ^m	0,20	0,25	0,25	0,30	0,30	0,35	0,35	0,40	0,40	0,45	0,45	0,45	0,50	0,55	0,55	
	30 ^m	0,20	0,20	0,25	0,25	0,30	0,30	0,35	0,35	0,40	0,40	0,45	0,50	0,50	0,50	0,55	
	45 ^m	0,20	0,20	0,25	0,25	0,30	0,30	0,35	0,35	0,40	0,40	0,45	0,50	0,50	0,50	0,55	
S. fisiológica		1,40	1,30	1,20	1,10	1,0	0,90	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,30	0,20	0,10	—	
a) 60 ^m		Sistema															
90 ^m Lect. de hemól. a)		0	0	pH	CH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	
b) 120 ^m		Sistema															
150 ^m Lect. de hemól. b)		0	0	0	0	0	0	0	0	pH	H	H	H	H	H	H	
c) 180 ^m		Sistema															
210 ^m Lect. de hemól. c)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/4	CH	H	H	H	
a) 1 d. h. m. = 0,10 cc.																	
b) 1 d. h. m. = 0,11 cc.																	
c) 1 d. h. m. = 0,11 cc.																	

en los experimentos 1, 2 y 3 en tiempos diferentes.

0,01 cc. de suero

3,12 gamas de antígeno

Experimento 2: Complemento fraccionado														Experimento 1: Testigo					
0,90	1,0	1,10	1,20	1,30	1,40	1,50	1,60	1,70	1,80	190	2,0	2,10	2,20	Comple- mento 1/10-cc.	Soiue. fisiol.	0,2 cc. de complejo fijador en c/tubo; contacto a 37° Sistema hemolítico 0,5 cc. en c/tubo; 30 minutos a 37°	Lectura		
																	90 ^m	150 ^m	210 ^m
0,05 cc. de complejo fijador en c/tubo en los tiempos indicados														1,0	1,20		0	0	0
														1,10	1,10		0	0	0
														1,20	1,0		0	0	0
														1,30	0,90		0	0	0
														1,40	0,80		0	0	0
1,30	1,20	1,10	1,0	0,90	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,30	0,20	0,10	—	1,50	0,70		0	0	0
hemolítico														1,60	0,60		0	0	0
0	0	0	pH	CH	H	H	H	H	H	H	H	H	H	1,70	0,50		1/2	0	0
hemolítico														1,80	0,40		H	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	pH	H	H	H	1,90	0,30		H	0	0
hemolítico														2,0	0,20		H	pH	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Hp	2,10	0,10		H	H	H
														2,20	—		H	H	pH

incremento de la fijación entre 60 y 120 minutos representa sólo el 12 % de la cantidad que ha entrado en reacción en los primeros 60 minutos; mientras después de los 120 minutos el incremento no es significativo. A su vez, en el experimento 2 (complejo fijador fraccionado), la cantidad de complemento que entra en reacción entre 60 y 120 minutos equivale al 35 % del fijado hasta los 60 minutos, avanzando entre 120 y 180 sólo un 10 % con respecto a la

TABLA VII. — *Incremento relativo por ciento del complemento fijado en los experimentos 1, 2 y 3, según tabla VI.*

<i>Complejo fijador</i>	Suero: 0,01 c.c. Antígeno: 3,12 gamas	
	Incremento por ciento entre:	
	60 y 120 minutos	120 y 180 minutos
1: Experimento testigo	12	3,8
2: » de complejo fijador fraccionado	35	10
3: Experimento de complemento fraccionado	44	6,2

cantidad fijada para los 120 minutos. Finalmente en el experimento 3 (complemento fraccionado) estos valores representan el 44 y 6,2 % respectivamente. Si se compara la marcha del proceso en los experimentos 2 y 3 con el experimento testigo 1, se observa que mientras este último alcanza el valor límite a los 120 minutos, los experimentos 2 y 3 no lo consiguen tampoco a los 180 minutos. Extrapolando puede inferirse sin embargo que en éste último tiempo los experimentos 2 y 3 se hallan próximos a sus valores límites. Las cifras anotadas en la tabla VII indican que en los sistemas en los cuales los reactivos se añaden en fracciones sucesivas, el proceso se realiza con una velocidad menor que en el experimento testigo en el cual la concentración inicial de los reactivos es mayor.

Si consideramos en los experimentos 1, 2 y 3 (tabla VI) la cantidad de complemento fijado cuando las reacciones llegan al equilibrio (180 minutos) se observa que en el experimento 2 (complejo fijador fraccionado) se obtiene un valor que sólo se diferencia en 4,2 por ciento del experimento testigo 1, mientras en el experimento 3 (complemento fraccionado) esta diferencia es de un 18 %; en este último caso es evidente que una parte del complemento no entra en reacción.

Ello indica que en las condiciones del experimento 3 se pone de manifiesto la existencia de fenómenos de saturación inespecífica que actuando sobre el complejo fijador modifican las relaciones cuantitativas entre éste y el complemento. Si se considera el valor de esta modificación y el hecho que se requiera condiciones experimentales particulares para poner de manifiesto la existencia de estas fuerzas, es claro, que ellas son de carácter secundario en el mecanismo fundamental de la reacción estudiada.

Al comparar la cantidad de suero (0,04 a 0,01 c.c.) que entra en la formación del complejo fijador y la cantidad de material al estado coloidal que ello significa, con respecto al material en el mismo estado de dispersión contenido en el volumen de complemento usado (0,2 c.c. de suero de cavia), las diferencias anotadas en cuanto a la capacidad de fijar complemento entre el experimento 3 (complemento fraccionado) y experimento 2 (complejo fijador fraccionado) podrían adjudicarse a la desproporción de material extraño presente en ambos reactivos. Es por ello que creemos de interés el estudio de esta reacción con las fracciones purificadas del complemento.

RESUMEN

1. — Se ha estudiado la influencia de la adición fraccionada de los componentes de la reacción de fijación del complemento sobre el equilibrio del sistema mediante la realización de tres experimentos: 1 (testigo), 2 (complejo fijador fraccionado), y 3 (complemento fraccionado).

2. — Cuando los integrantes del sistema se adicionan de una vez (experimento testigo) el término de la reacción se alcanza en 120 minutos.

3. — Cuando los reactivos se adicionan fraccionadamente el lapso necesario para alcanzar el término de la reacción — equilibrio — es mayor que en el experimento testigo.

4. — Cuando se adiciona el complejo fijador en fracciones sucesivas (experimento 2) la reacción alcanza su término a los 180 minutos y la cantidad de complemento fijada equivale al 95,8 % de la cantidad de este reactivo fijada en el experimento testigo.

5. — Cuando se adiciona el complemento en fracciones sucesivas (experimento 3) la reacción alcanza su término a los 180 minutos y la cantidad de complemento equivale al 82 % de la cantidad fijada en el experimento testigo.

6. — Cuando el complemento se adiciona en forma fraccionada parte del mismo no interviene en la reacción, revelando la existencia de fenómenos de saturación inespecífica del complejo fijador.

CONCLUSIONES

1. — La adición fraccionada del complejo fijador confirma desde el punto de vista cuantitativo que la reacción de fijación del complemento es un proceso que se realiza a imagen de las reacciones químicas.

2. — La adición fraccionada del complemento descubre en cambio la existencia de fenómenos de saturación inespecífica del complejo fijador, de carácter secundario.

BIBLIOGRAFIA

(¹) R. R. DE PIROSKY, I. PIROSKY y S. DE YALOV. — *Rev. Inst. Bact.* « Dr. Carlos G. Malbrán », **10**: 242-257, 1941.