

REVISTA  
DEL  
INSTITUTO BACTERIOLÓGICO  
DEL  
DEPARTAMENTO NACIONAL DE HIGIENE

---

Valor antigénico del bacilo de Koch  
y sus fracciones

Por Nicolás V. D'Alessandro

La infección tuberculosa es generalmente un proceso relativamente lento, sub agudo o crónico, producido por el *Mycobacterium tuberculosis*. En evidente contraste con muchos otros procesos infecciosos agudos, en los cuales es relativamente fácil poner de manifiesto los anticuerpos, en la bacilosis por el contrario, la dificultad de revelarlos ha dado lugar a numerosos estudios.

La función antigénica de los cultivos del bacilo tuberculoso se conoce desde los primeros ensayos de Bordet y Gengou y de Wassermann y Bruck, quienes probaron que con los sueros tuberculosos se puede fijar el complemento en presencia de bacilos tuberculosos usados como antígenos.

Estudios posteriores han sido orientados en el sentido de obtener una aplicación práctica de los ensayos y han consistido principalmente en experimentos para determinar en qué tiempo y bajo qué condiciones, después de la infección o inmunización

*Recibido para publicarse, marzo 1930.*

---

(\*) El empeño de regularizar las apariciones anuales de esta Revista nos obliga a dar un determinado mes como época de la publicación de cada entrega, no obstante los retardos que en esto ocurren, debidos a las dificultades originadas por nuestras prácticas administrativas y la escasez de fondos para costear la Revista. Esta aclaración tiende a explicar las discrepancias entre el mes correspondiente a cada entrega y la fecha inscripta al pie de la página primera de cada trabajo — N. de la D.

artificial las sensibilizatrices específicas aparecen en el suero sanguíneo del hombre o de los animales.

Hoy la difusión del método de fijación del complemento en su aplicación al diagnóstico de la tuberculosis humana ha despertado nuevamente el interés por el estudio de la actividad y especificidad de los antígenos.

La acción antigénica del bacilo tuberculoso como su carácter específico, han sido extensamente estudiados. En primitivos trabajos Bordet y Gengou obtuvieron fijación cruzada con el bacilo tuberculoso aviario y el humano y con otros bacilos ácido resistentes.

Much efectuó reacciones con bacilos tuberculosos, de la lepra y del esmegma, con sueros de bacilosos y leprosos. El más alto porcentaje de fijación lo obtuvo usando los antígenos tuberculosos y leprosos.

Nègre y Boquet encontraron que con antígenos preparados con bacilos tuberculosos y diftéricos respectivamente dieron igual fijación con inmun-suero tuberculoso de caballo, y antígenos preparados con otros bacilos ácido resistentes también fijaban este inmun-suero pero en grado menor. Ellos encontraron por otro lado, que antígenos preparados con bacilos tuberculosos no fijaban el suero normal humano, bovino o de caballo ni suero de diftéricos ni sifilíticos.

Bang y Andersen han obtenido fijación del complemento con antígenos tuberculosos en la enfermedad de Johne que es una enfermedad del ganado producida por un bacilo ácido resistente.

Las reacciones positivas que han sido obtenidas con sueros sifilíticos fueron atribuidas a los lipoides contenidos en los antígenos tuberculosos. La mayor parte de esas reacciones han sido efectuadas con antígenos preparados con tejidos tuberculosos o conteniendo los lipoides derivados de los medios de cultivo en los cuales creció el bacilo tuberculoso.

Besredka preparaba su antígeno por crecimiento del bacilo en un medio alcalino de huevo. El antígeno de Besredka aún cuando es extremadamente sensible con los sueros tuberculosos, da también un gran número de reacciones positivas con sueros sifilíticos.

Bronfenbrenner y Rockman dicen que la fijación no específica obtenida con este antígeno podría eliminarse por la separación de los lípidos sin alterar la actividad específica del antígeno con los sueros tuberculosos.

Nuestro estudio se refiere exclusivamente a la existencia del antígeno en los bacilos, y en sus medios de cultivo. Por él hemos podido establecer por una parte, hechos que corroboran los hallazgos de otros autores (\*) y por otra parte la variedad del poder antigénico según los medios de cultivos, las razas de bacilos usados, los tiempos de incubación y el tratamiento a que se someten los cuerpos bacilares.

Las conclusiones a que hemos podido llegar se refieren a un inmun-suero obtenido artificialmente como fué el empleado en nuestros experimentos, pero a pesar de esto, aquellas tienen a nuestro entender aplicación al caso de los sueros de enfermos que contengan anticuerpos.

A dilucidar este asunto, a buscar aplicaciones nuevas de las propiedades de los antígenos y a establecer la naturaleza y mecanismo de la reacción, pienso encaminar mis próximas investigaciones.

#### PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS

Los medios de cultivo usados para este trabajo, son los indicados a continuación:

##### 1. *Medio de Besredka con yema de huevo* (1).

Este medio de cultivo se halla únicamente constituido por yemas de huevo y agua destilada en la proporción de 350 cm.<sup>3</sup> que representan las 20 yemas reunidas en 7 litros de agua 1:20 (350:7000 1:20); se alcaliniza la mezcla con solución de soda hasta reacción francamente alcalina a la fenolftaleína y se esteriliza al autoclave a 110° C. durante 20 minutos.

La mezcla se clarifica agregando una solución de hidrato de sodio al 1 por 100. Este tiempo es el más difícil según su autor y en el mismo artículo expone el modo de subsanar la dificultad. El medio ideado por Besredka, tiene el inconveniente

---

(\*) Un resumen sobre la literatura que trata de este tema puede verse en A STUDY OF THE COMPLEMENT FIXATION REACTION IN TUBERCULOSIS by A. Wadsworth, F. Maltaner y Elizaberth Maltaner. *The Journal of Immunology*, Vol. X. N° 1 1925.

(1) BESREDKA. Culture des bacilles tuberculeux dans du jaune d'oeuf. *Annal. de l'Institut Pasteur*. Vol. 35. Pág. 291. Año 1921.

de que la apreciación de la claridad del medio, depende de factores individuales susceptibles de variar de un preparador a otro. Y además, de que no siempre es necesaria la misma cantidad de soda para producir la clarificación de las distintas yemas de huevo. Es por todo esto que resolvimos substituir el método puramente personal, objetivo de Besredka, por otro en el que quedara eliminado ese factor, como ocurre en: La determinación de la concentración de iones hidrógeno del medio <sup>(1)</sup>.

Los reiterados ensayos que hemos efectuado en la obtención del antígeno de Besredka, nos autorizan a decir que la adición excesiva o deficiente de soda hace al medio impropio para el buen desarrollo del poder antigénico del bacilo de Koch.

La alcalinidad del medio de Besredka para conseguir un buen antígeno para la fijación del complemento, debe estar comprendida entre un pH superior a 9 antes de la esterilización y 8,2 — 8,4 después de esterilizado el medio.

## 2. Caldo glicerinado de Dorset <sup>(2)</sup>.

Las proporciones son: Una parte de carne de ternera, de la región coxofemoral desgrasada y finamente picada, dos partes de agua destilada, peptona 1 %, fosfato ácido de potasio 0,5 % y glicerina 7 %.

Dejar la carne en el agua una hora a temperatura ambiente; calentar después a 50° C. durante dos horas.

Filtrar por trapo de queso y el agua de carne hacerla hervir hasta la formación de espuma blanca; 30-40 minutos más o menos.

Volver a filtrar por papel mojado y dejar en la heladera durante una noche. Completar volumen.

Añadir peptona "Bacto Difco" y fosfato ácido de potasio en la proporción indicada (disolverlo en caliente).

Se alcaliniza a + 6 puntos de acuerdo a la escala de Fuller. Fuller.

Hacer hervir una hora y añadir después la glicerina en la proporción precitada.

---

(1) D'ALESSANDRO N. V. y MODERN F. Preparación del medio de Besredka con yema de huevo. *Rev. de la Soc. Argent. de Biología*. Vol. IV. N° 6. Pág. 476. Año 1928.

(2) Este medio es empleado en el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (*Bureau of Animal Industry*), para la preparación de la tuberculina. (Comunicación personal del DR. ALFREDO SORDELLI).

Filtrar por papel y repartir 100 cm.<sup>3</sup> en frascos de Erlenmeyer de 300 cm.<sup>3</sup>.

Esterilizar a 115 - 118° C. durante 25 minutos.

### 3. Medio de Sauton <sup>(1)</sup>.

El medio de Sauton es un medio químicamente definido cuya composición es la siguiente:

Asparagina .....	4	gramos
Glicerina .....	60	„
Acido cítrico .....	2	„
Fosfato bipotásico .....	0,5	„
Sulfato de magnesio .....	0,5	„
Citrato de hierro amoníacal .....	0,05	„
Agua destilada .....	1000	

Neutralizar con amoníaco hasta un pH 7.2. Distribuir de a 100 cm.<sup>3</sup> en frascos de Erlenmeyer de 300 cm.<sup>3</sup>. Esterilizar a 120° C. por 20 minutos.

### 4. Medio de Petroff <sup>(2)</sup> (sin violeta de genciana).

Las proporciones de sus componentes son: Carne de ternera desgrasada y picada 250 gramos, agua destilada 212 cm.<sup>3</sup>, glicerina 37.5 cm.<sup>3</sup>, clara y yema de huevo 400 cm.<sup>3</sup> (16-20 huevos).

Dejar una noche en la heladera la carne con el agua y la glicerina y filtrarla después por gasa.

Reunir por otra parte íntimamente la clara con la yema y filtrarla por gasa.

Mezclar: Filtrado de carne ..... 200 cm.<sup>3</sup>  
 „ „ huevo ..... 400 „

Repartir 10 cm.<sup>3</sup> en tubos y coagular

a 85°C. durante 30 minutos el 1<sup>er</sup> día

„ 75°C. „ 30 „ „ 2<sup>do</sup> „

„ 75°C. „ 30 „ „ 3<sup>er</sup> „ (\*)

Los utensilios empleados para este medio deben ser todos estériles.

(1) SAUTON B. *Comptes rendus Academie des Sciences*. 1912, 155, 1880.

(2) PETROFF S. A. *Journal of Experimental Medicine*. Vol. 21, pág. 38. Año 1915.

(\*) Con el objeto de obtener suficiente agua de condensación en los tubos, hemos preferido efectuar el 2<sup>o</sup> y 3<sup>er</sup> calentamiento, directamente en un baño-maría.

##### 5. *Papa con caldo glicerinado de Dorset.*

Este medio ha sido preparado de acuerdo a la técnica común, alcalinizando la papa con carbonato de sodio al 5 por 1000 durante 2 horas. Repartiéndola en tubos en unión con caldo glicerinado de Dorset y esterilizado a 120°C. por 20 minutos.

#### PREPARACIÓN DE LOS ANTÍGENOS

Los antígenos fueron preparados con los cultivos del bacilo de Koch y su poder antigénico determinado en relación al suero inmune de caballo. Distintos han sido los métodos de preparación empleados para obtener los antígenos, los cuales variaban según se tratara del medio líquido libre de las bacterias después de su desarrollo, de estas en suspensión acuosa salina o bien de sus fracciones físicamente separables.

Las fracciones del bacilo de Koch se preparan en este trabajo empleando la solución fisiológica, dejando para una experiencia ulterior el estudio antigénico de las fracciones separadas por otros disolventes.

##### *Obtención de cultivos del bacilo de Koch en el medio de Besredka para la preparación de los antígenos tuberculosos.*

Los bacilos de Koch de raza humana, bovina y B. C. G. (Bacilo Calmette-Guérin), fueron cultivados en este medio por espacio de 4, 8 y 12 días a 37° en frascos Erlenmeyer de amplia base con 100 cm.<sup>3</sup> de medio de cultivo en cada frasco.

Trascurridos los tiempos indicados para el crecimiento de los bacilos, se procedía a matarlos, a 100°C. durante media hora en el autoclave. Se dejaban en reposo hasta el día siguiente, para que los cuerpos bacterianos se sedimentasen; se separaban después los bacilos del medio de cultivo y éste se hacía isotónico por medio del cloruro de sodio. Este medio de cultivo así preparado es el antígeno que denominamos "Medio de Besredka libre de bacilos después de su desarrollo".

Por otra parte, los bacilos que han sido separados de su medio de cultivo, se centrifugan para que todo rastro de éste quede eliminado. Después se hace con ellos una suspensión en solución fisiológica agitándolos durante dos horas en frascos con

perlas de vidrio para obtener una mezcla bien homogénea. El líquido opalescente que resulta se diluye en una cantidad de solución fisiológica igual a la del medio de cultivo empleado. Al antígeno así preparado lo llamamos "Bacilo de Koch en suspensión acuosa".

A una parte de este antígeno bacilar en suspensión acuosa se le somete a un proceso de maceración y agitación con el fin de poder obtener la disolución de la parte soluble del antígeno en el líquido que lo contiene. Este proceso físico consiste en un calentamiento a 100°C. en un baño de Koch por 10 minutos y en una agitación durante una hora en siete días consecutivos. En los intervalos el antígeno se coloca en la estufa a 37°. Al antígeno así tratado llamámoslo "Bacilo de Koch macerados en suspensión acuosa".

Finalmente, a este último antígeno se lo fracciona en dos partes mediante la centrifugación y se obtiene una porción líquida que sobrenada y un sedimento bacilar, que llamaremos con los nombres de "Extracto acuoso" y "Residuo bacilar", respectivamente.

*Obtención de los cultivos de Koch en caldo glicerinado de Dorset y en medio de Sauton para la preparación de los antígenos tuberculosos.*

Las películas formadas por el bacilo de Koch de origen humano y bovino y la del B. C. G. han sido sembradas en frascos de Erlenmeyer de 300 cm.<sup>3</sup> con 100 cm.<sup>3</sup> de los medios de Dorset y de Sauton y colocadas a 37° hasta estar totalmente cubiertas las superficies de los medios (25-30 días). Una vez conseguido este crecimiento de las películas, se matan los gérmenes a 100°C. en el autoclave, por el espacio de media hora. Por decantación, se separan los bacilos de los líquidos de cultivo, dándoles a estos últimos una concentración del 9 por 1000 en cloruro de sodio para hacerlos isotónicos. A estos antígenos los denominamos "Caldo glicerinado Dorset y medio de Sauton libres de bacilos después de su desarrollo".

Los bacilos separados de los líquidos de cultivo se colocan respectivamente en frascos con perlas de vidrio y solución fisiológica y se los somete, después, a la agitación mecánica durante tres horas, obteniéndose así una solución madre de regular homogeneidad. La mezcla opaca, lechosa que resulta, se

diluye hasta darle una opacidad igual a la que tienen los cultivos efectuados en el medio de Besredka.

A estos bacilos en suspensión acuosa, como a sus fracciones físicamente obtenidas, se los preparan y designan respectivamente como en los anteriores.

*Obtención de los bacilos de Koch cultivados en medio de Petroff y en papa para la preparación de los antígenos tuberculosos.*

Los bacilos tuberculosos de raza humana y bovina y el B. C. G., se cultivan en el medio de Petroff y en papa hasta obtener un exuberante desarrollo. Después se recogen mediante una espátula y se suspenden en solución fisiológica, habiéndose procedido con este antígeno en igual forma que para la preparación de los anteriores. Emplearemos por lo tanto para sus designaciones análogas denominaciones.

Los antígenos a que se refiere este trabajo han sido, pues, los siguientes:

I. ANTÍGENOS OBTENIDOS EN EL MEDIO DE BESREDKA

*Cultivos de cepa humana después de 4 días de desarrollo*

1. Medio de Besredka librado de bacilos.
2. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
3. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
4. Extracto acuoso.
5. Residuo bacilar.

*Cultivos de cepa humana después de 8 días de desarrollo*

6. Medio de Besredka librado de bacilos.
7. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
8. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
9. Extracto acuoso.
10. Residuo bacilar.

*Cultivos de cepa humana, después de 12 días de desarrollo*

11. Medio de Besredka librado de bacilos.
12. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
13. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
14. Extracto acuoso.
15. Residuo bacilar.

*Cultivo de cepa bovina, después de 4 días de desarrollo*

16. Medio de Besredka librado de bacilos.
17. Bacilo de Koch en suspensión acuosa.
18. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
19. Extracto acuoso.
20. Residuo bacilar.

*Cultivo de cepa bovina, después de 8 días de desarrollo*

21. Medio de Besredka librado de bacilos.
22. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
23. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
24. Extracto acuoso.
25. Residuo bacilar.

*Cultivo de cepa bovina, después de 12 días de desarrollo*

26. Medio de Besredka librado de bacilos.
27. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
28. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
29. Extracto acuoso.
30. Residuo bacilar.

*Cultivos de 4 días, cepa B. C. G.*

31. Medio de Besredka librado de bacilos.
32. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
33. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
34. Extracto acuoso.
35. Residuo bacilar.

*Cultivo de 8 días, cepa B. C. G.*

36. Medio de Besredka librado de bacilos.
37. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
38. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
39. Extracto acuoso.
40. Residuo bacilar.

*Cultivo de 12 días, cepa B. C. G.*

41. Medio de Besredka librado de los bacilos.
42. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
43. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
44. Extracto acuoso.
45. Residuo bacilar.

## II. ANTÍGENOS OBTENIDOS EN CALDO GLICERINADO DE DORSET

### *Cepa humana, cultivos completamente desarrollados*

46. Caldo glicerinado de Dorset librado de bacilos.
47. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
48. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
49. Extracto acuoso.
50. Residuo bacilar.

### *Cepa bovina, cultivos completamente desarrollados*

51. Caldo glicerinado de Dorset librado de bacilos.
52. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
53. Bacilos de Koch, macerados en suspensión acuosa.
54. Extracto acuoso.
55. Residuo bacilar.

### *Cepa B. C. G., cultivos completamente desarrollados*

56. Caldo glicerinado de Dorset librado de bacilos.
57. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
58. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
59. Extracto acuoso.
60. Residuo bacilar.

## III. ANTÍGENOS OBTENIDOS EN EL MEDIO DE SAUTON

### *Cepa humana, cultivos completamente desarrollados*

61. Medio de Sauton librado de bacilos.
62. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
63. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
64. Extracto acuoso.
65. Residuo bacilar.

### *Cepa bovina, cultivos completamente desarrollados*

66. Medio de Sauton librado de bacilos.
67. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
68. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.

- 69. Extracto acuoso.
- 70. Residuo bacilar.

*Cepa B. C. G., cultivos completamente desarrollados*

- 71. Medio de Sauton librado de bacilos.
- 72. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
- 73. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
- 74. Extracto acuoso.
- 75. Residuo bacilar.

IV. ANTÍGENOS OBTENIDOS EN EL MEDIO DE PETROFF

*Cepa humana*

- 76. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
- 77. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
- 78. Extracto acuoso.
- 79. Residuo bacilar.

*Cepa bovina*

- 80. Bacilo de Koch en suspensión acuosa.
- 81. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
- 82. Extracto acuoso.
- 83. Residuo bacilar.

*Cepa B. C. G.*

- 84. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
- 85. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
- 86. Extracto acuoso.
- 87. Residuo bacilar.

V. ANTÍGENOS OBTENIDOS EN LA PAPA

*Cepa humana*

- 88. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
- 89. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
- 90. Extracto acuoso.
- 91. Residuo bacilar.

*Cepa bovina*

- 92. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
- 93. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.

- 94. Extracto acuoso.
- 95. Residuo bacilar.

*Cepa B. C. G.*

- 96. Bacilos de Koch en suspensión acuosa.
- 97. Bacilos de Koch macerados, en suspensión acuosa.
- 98. Extracto acuoso.
- 99. Residuo bacilar.

#### PREPARACIÓN DEL INMUN-SUERO

La preparación del suero test se hizo con el objeto de poder investigar el valor antigénico del bacilo de Koch y sus fracciones físicamente separables.

Se inocularon dos caballos con el bacilo de Koch y sus sueros fueron explorados de tiempo en tiempo para ver si tenían propiedades fijadoras.

Las cepas del bacilo de Koch utilizadas han sido dos: humana la una y bovina la otra y ambas virulentas.

Tanto las inoculaciones de antígenos como las reacciones térmicas, fueron debidamente registradas en su respectivo protocolo (pág. 627).

Los bacilos tuberculosos cultivados en el medio de Besredka a los cuatro días de desarrollo fueron matados a 100° C. Se separaron los bacilos del medio de cultivo y se suspendieron en solución acuosa salada (ver preparación de los "Bacilos de Koch en suspensión acuosa". Medio de Besredka, 4 días de desarrollo, pág. 620).

La vía elegida para la inmunización ha sido la intravenosa. Se obtiene en esta forma un suero de alto valor mediante las inoculaciones sucesivas de suspensión acuosa de bacilos.

En tales condiciones de inoculación se logra obtener, en un breve espacio de tiempo, un suero abundantemente dotado de anticuerpos.

Cuando el valor del inmun-suero era adecuado para efectuar nuestros ensayos de fijación del complemento, realizamos en el animal productor una sangría de 10 litros. Se envasó el suero en ampollas y se conservó en el frío.

PROTOCOLO DE INOCULACIONES DEL ANTÍGENO TUBERCULOSO

Fecha de la inoculación	N.º de equino	Via elegida	Dosis del anti-geno	Temperatura		San-gria	Valor de sue-ro por cm.ª	Estado y peso del animal
				Mañana	Tarde			
AÑO 1928	338	Venosa	cm.ª	—,-	—,-	cm.ª	—	Bueno, ks. 518
Octubre 18	"	"	1	38,º	—,-	—	—	"
" 19	"	"	—	—,-	—,-	—	—	"
" 20	"	"	—	37,9º	38,1º	—	—	"
" 21	"	"	5	37,9º	38,1º	—	—	"
" 22	"	"	—	37,7º	38,2º	—	—	"
" 23	"	"	—	38,1º	38,5º	—	—	"
" 24	"	"	—	38,1º	38,2º	—	—	"
" 25	"	"	10	38,2º	—,-	—	—	"
" 26	"	"	—	—,-	—,-	—	—	"
" 27	"	"	—	38,2º	38,2º	—	—	"
" 28	"	"	10	37,9º	38,2º	—	—	"
" 29	"	"	—	39,7º	38,7º	—	—	"
" 30	"	"	—	38,4º	38,1º	—	—	"
" 31	"	"	—	37,5º	37,9º	—	—	"
Noviemb. 1	"	"	15	37,2º	38,º	—	—	Bueno
" 2	"	"	—	38,º	38,2º	—	—	"
" 3	"	"	—	38,º	38,2º	20	Neg.	"
" 4	"	"	20	37,5º	38,1º	—	—	"
" 5	"	"	—	36,7º	37,5º	—	—	"
" 6	"	"	—	37,2º	37,7º	—	—	"
" 7	"	"	—	37,2º	37,9º	—	—	"
" 8	"	"	20	37,3º	37,8º	—	—	"
" 9	"	"	—	37,4º	37,6º	—	—	"
" 10	"	"	—	37,3º	37,9º	—	—	"
" 11	"	"	—	37,2º	37,7º	—	—	"
" 12	"	"	—	37,2º	37,2º	—	—	"
" 13	"	"	—	37,3º	37,8º	20	200	"
" 14	"	"	20	37,4º	37,9º	—	—	"
" 15	"	"	—	37,1º	38,3º	—	—	"
" 16	"	"	—	37,9º	38,º	—	—	"
" 17	"	"	—	37,2º	37,2º	—	—	"
" 18	"	"	30	37,2º	37,4º	—	—	Ks. 495
" 19	"	"	—	37,1º	38,3º	—	—	"
" 20	"	"	—	37,4º	38,4º	—	—	"
" 21	"	"	—	37,8º	38,5º	—	—	"
" 22	"	"	30	37,7º	38,1º	—	—	"
" 23	"	"	—	37,5º	38,3º	—	—	"
" 24	"	Venosa	cm.ª	—,-	—,-	—	—	Kilos 490
" 25	"	"	40	37,3º	38,1º	—	—	"
" 26	"	"	—	38,2º	38,7º	—	—	"
" 27	"	"	—	37,3º	37,º	—	—	"
" 28	"	"	—	37,2º	37,6º	—	—	"
" 29	"	"	—	37,5º	38,º	—	—	"
" 30	"	"	40	38,6º	38,9º	20	1000	"
Diciembre 1	"	"	—	37,9º	38,º	—	—	"
" 2	"	"	—	37,7º	37,9º	—	—	"
" 3	"	"	—	37,7º	38,1º	—	—	"
" 4	"	"	—	37,4º	37,9º	—	—	"
" 5	"	"	—	37,7º	37,5º	—	—	"
" 6	"	"	—	37,7º	37,8º	—	—	"
" 7	"	"	—	37,8º	37,8º	—	—	"
" 8	"	"	—	37,6º	37,8º	10 lit.	1000	Kilos 476

No se incluyen los datos correspondientes al caballo Nº 177, por haber muerto en el curso de las inoculaciones.

## ESTUDIO COMPARATIVO DEL VALOR DE LOS ANTÍGENOS

El estudio de la distribución de las propiedades antigénicas puede ser hecho utilizando las fracciones del cultivo separables por medio físicos, mecánicos o químicos.

Las fracciones más simplemente separables se consiguen por procedimientos físicos: separando los bacilos del medio en que crecieron y tratándolos después según los métodos indicados posteriormente en este trabajo. Por otra parte, pueden separarse las fracciones del cultivo físicamente por otros disolventes.

En este capítulo exponemos los ensayos efectuados para verificar qué fracciones de los antígenos que hemos preparado funcionan mejor como sustancias antigénicas para poner en evidencia las sensibilizatrices del inmun-suero.

a) *Técnica de los ensayos de los antígenos.*

La técnica de la fijación del complemento seguida en este trabajo, ha sido la que emplea dosis fijas de antígeno y complemento y dosis variables de suero. El suero de cobaya usado como complemento, fué previamente diluído al 10 por 100 y titulado en presencia de cada antígeno en ensayo, como una permanencia de una hora en baño-maría a 37° antes de la adición de los hematies sensibilizados; una vez agregado el sistema hemolítico, se dejan otra media hora en baño-maría 37°.

La dosis de complemento utilizada para nuestros ensayos, ha sido una cantidad exactamente titulada, que representaba una actividad hemolítica definida (la dosis mínima hemolítica).

Como sistema hemolítico se usó el siguiente complejo: glóbulos rojos de carnero lavados y suero de conejo anticarnero previamente titulado. Esta suspensión de hematies sensibilizados, fué preparada por mezcla de partes iguales de dilución de hematies al 10 por 100 y una dilución de suero hemolítico que contenía 5 veces la dosis hemolítica.

La actividad específica de los antígenos fué determinada por titulación con el inmun-suero y se investigó a la vez si tenían poder anticomplementario y hemolítico.

La dosis fija de antígeno elegida fué de 0,3 cm.<sup>3</sup>, cantidad que se ha comprobado no tener propiedades anticomplementarias ni líticas.

La cantidad de suero test — titulada de antemano, para conocer la riqueza en anticuerpos — fué de 0,05 - 0,03 - 0,01 - 0,005 - 0,003 - 0,001 - 0,0005 - 0,0003 - 0,0001; este suero fué inactivado a 56° durante 5 minutos en el momento de la reacción <sup>(1)</sup>. Las mezclas de suero, antígeno, complemento y solución fisiológica hasta integrar un volumen dado (1 cm.<sup>3</sup>), se colocan en baño-maría por una hora a 37°.

Después de este tiempo, se agregan los hematies sensibilizados y se colocan de nuevo en baño-maría por media hora. Los tubos de las reacciones se retiran al cabo de dicho tiempo y se ponen en la heladera y los resultados se leen a la mañana siguiente.

Para la anotación de los resultados, hemos adoptado los siguientes símbolos:

- O. Completa fijación (ausencia total de hemolisis).
- P. H. Poca hemolisis (líquido que sobrenada rosado amarillento con sedimento de hematies, hemolisis escasa, no observable cuando se agita el tubo).
- C. H. Casi hemolisis (líquido que sobrenada rojizo con pequeño sedimento de hematies, observable después de la agitación).
- H. Hemolisis total (líquido rojo, reacción negativa).

Las reacciones fueron cuidadosamente observadas en cada tubo y anotadas en las tablas correspondientes que figuran en la parte experimental.

#### b) *Datos experimentales.*

Determinación del poder antigénico del bacilo de Koch (humano, bovino y B. C. G.) a los 4, 8 y 12 días de desarrollo en el medio de Besredka o hasta completo desarrollo en los demás medios (caldo glicerinado Dorset, medio de Sauton, Petroff y papa).

Se investiga el poder antigénico: I, del medio de cultivo librado de los bacilos después de su desarrollo; II, de los bacilos en suspensión acuosa; III, de los bacilos macerados en suspensión acuosa; IV, del extracto acuoso y V, del residuo bacilar (suspendido en solución acuosa).

---

(1) No hemos seguido la técnica clásica para la inactivación de los sueros, por haber comprobado que no es necesario un calentamiento de media hora, porque el curso de la reacción en nada se perturba con someter los sueros a una ligera inactivación de 5 minutos.

Las reacciones que figuran en los cuadros indicados a continuación han sido efectuadas de acuerdo con la técnica especificada anteriormente (pág. N° 628).

**BACILO DE KOCH (Cepa humana)**

Medio de Besredka (Cultivo de 4 días)

CUADRO I

*Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO II

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO III

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO IV

*Extracto Acuoso*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO V

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa humana)**

Medio de Besredka (Cultivo de 8 días)

CUADRO VI

*Medio de Besredka librado de bacilos después de su desarrollo*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO VII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO VIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO IX

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO X

*Residuo bacilar (suspendido en solución fisiológica)*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa humana)**

Medio de Besredka (Cultivo de 12 días)

CUADRO XI

*Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XIV

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XV

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa bovina)**

Medio de Besredka (Cultivo de 4 días)

CUADRO XVI

*Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XVII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XVIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XIX

*Extracto acuoso*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XX

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	C H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa bovina)**

Medio de Besredka (Cultivo de 8 días)

CUADRO XXI

*Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXIV

*Extracto acuoso*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXV

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa bovina)**

Medio de Besredka (Cultivo de 12 días)

CUADRO XXVI

*Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXVII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXVIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXIX

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXX

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa B. C. G.)**

Medio de Besredka (Cultivo de 4 días)

## CUADRO XXXI

*Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

## CUADRO XXXII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXXIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXXIV

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXXV

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa B. C. G.)**

Medio de Besredka (Cultivo de 8 días)

CUADRO XXXVI

*Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXXVII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXXVIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	O
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XXXIX

*Extracto acuoso*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	O
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XL

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa B. C. G.)**

Medio de Besredka (Cultivo de 12 días)

CUADRO XLI

*Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XLII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XLIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	O
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XLIV

*Extracto acuoso*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	O
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XLV

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa humana)**

Caldo glicerinado Dorset (Cultivo de 28 días)

CUADRO XLVI

*Caldo glicerinado Dorset librado de los bacilos después de su desarrollo*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	C H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XLVII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XLVIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XLIX

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO L

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa bovina)**

Caldo glicerinado Dorset (Cultivo de 31 días)

## CUADRO LI

*Caldo glicerinado Dorset librado de los bacilos después de su desarrollo*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	C H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

## CUADRO LII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LIV

*Extracto Acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LV

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	C H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa B. C. G.)**

Caldo glicerinado Dorset (Cultivo de 32 días)

CUADRO LVI

*Caldo glicerinado Dorset librado de los bacilos después de su desarrollo*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	C H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LVII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LVIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LIX

*Extracto acuoso*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LX

*Residuo bacilar (suspendido en solución fisiológica)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	C H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa humana)**

Medio de Sauton (Cultivo de 28 días)

CUADRO LXI

*Medio de Sauton librado de los bacilos después de su desarrollo*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXIV

*Extracto acuoso*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXV

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa bovina)**

Medio de Sauton (Cultivo de 30 días)

CUADRO LXVI

*Medio de Sauton librado de los bacilos después de su desarrollo*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	C H
4.	0,005	0,3	" "	H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXVII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXVIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXIX

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXX

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	C H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa B. C. G.)**

Medio de Sauton (Cultivo de 19 días)

CUADRO LXXI

*Medio de Sauton librado de los bacilos después de su desarrollo*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXIV

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXV

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	H
4.	0,005	0,3	" "	H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa humana)**

Medio de Petroff (Cultivo de 22 días)

CUADRO LXXVI

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXVII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXVIII

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXIX

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa bovina)**

Medio de Petroff (Cultivo de 22 días)

CUADRO LXXX

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXXI

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	O
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXXII

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	O
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXXIII

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	C H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa B. C. G.)**

Medio de Petroff (Cultivo de 22 días)

CUADRO LXXXIV

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXXV

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	O
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	C H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXXVI

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	O
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO LXXXVII

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	C H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa humana)**

Papa glicerizada (Cultivo de 30 días)

CUADRO LXXXVIII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CÚADRO LXXXIX

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XC

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XCI

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	H
6.	0,001	0,3	" "	H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa bovina)**

Papa glicerizada (Cultivo de 30 días)

CUADRO XCII

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	P H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XCIII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XCIV

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XCV

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

**BACILO DE KOCH (Cepa B. C. G.)**

Papa glicerinada (Cultivo de 15 días)

CUADRO XCVI

*Bacilo de Koch en suspensión acuosa*

Nº del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XCVII

*Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XCVIII

*Extracto acuoso*

N° del tubo	Suero test cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	O
2.	0,03	0,3	" "	O
3.	0,01	0,3	" "	O
4.	0,005	0,3	" "	O
5.	0,003	0,3	" "	O
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

CUADRO XCIX

*Residuo bacilar (suspendido en solución acuosa)*

Nº del tubo	Suero tes: cm. <sup>3</sup>	Antígeno cm. <sup>3</sup>	Complemento titulado	Resultados
1.	0,05	0,3	1 dosis	P H
2.	0,03	0,3	" "	P H
3.	0,01	0,3	" "	P H
4.	0,005	0,3	" "	P H
5.	0,003	0,3	" "	P H
6.	0,001	0,3	" "	C H
7.	0,0005	0,3	" "	H
8.	0,0003	0,3	" "	H
9.	0,0001	0,3	" "	H

c) *Resultados.*

Determinado ya el valor antigénico del bacilo de Koch y sus fracciones mediante la fijación del complemento, se pueden calcular los valores de la actividad de cada antígeno tomando en consideración que esta actividad es inversamente proporcional a la dosis de suero que fija una dosis hemolítica de complemento.

En la tabla siguiente están consignados los valores de la actividad calculados por la expresión siguiente:

$$\frac{1}{\text{volumen de suero que fija una dosis hemolítica}}$$

volumen de suero que fija una dosis hemolítica

Esta cifra expresa el número de dosis hemolíticas que puede fijar 1 cm.<sup>3</sup> del inmun-suero en presencia del volumen fijo de antígeno (0,3 cm.<sup>3</sup>) usado en todas las experiencias.

La dosis de suero que fija una dosis hemolítica de complemento fué elegida no de la manera rígida que indica su definición, salvo en los casos donde esa elección era claramente determinada.

Cuando en la fijación había uno o más tubos donde la hemolisis era casi completa (P. H.) se adoptó como límite la menor dosis que casi completamente fijaba la alexina.

Consignaremos, además, en la tabla de actividad de los antígenos el medio de cultivo empleado, la cepa de bacilo de Koch utilizada y el tiempo transcurrido para su desarrollo.

TABLA DE ACTIVIDAD DE LOS ANTÍGENOS

Antígeno ensayado	Bacilo de Koch cepa utilizada	Medio de cultivo empleado	Tiempo transcu- rrido para su desarrollo	Dosis del suero que fija	Actividad de los antígenos
Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo	Humana	Medio de Besredka	4 días	0,003	333
Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo	"	" " "	8 "	0,005	200
Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo	"	" " "	12 "	0,005	200
Caldo glicerinado Dorset librado de los bacilos después de su desarrollo .....	"	Caldo glicerinado Dorset	28 "	0,01	100
Medio de Sauton librado de los bacilos después de su desarrollo	"	Medio de Sauton	28 "	0,01	100
Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo	Bovina	Medio de Besredka	4 "	0,003	333
Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo	"	" " "	8 "	0,005	200
Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo	"	" " "	12 "	0,003	333
Caldo glicerinado Dorset librado de los bacilos después de su desarrollo .....	"	Caldo glicerinado Dorset	31 "	0,01	100

TABLA DE ACTIVIDAD DE LOS ANTÍGENOS

Antígeno ensayado	Bacilo de Koch cepa utilizada	Medio de cultivo empleado	Tiempo transcurrido para su desarrollo	Dosis del suero que fija	Actividad de los antígenos
Medio de Sauton librado de los bacilos después de su desarrollo	Bovina	Medio de Sauton	30 días	0,03	33
Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo	B. C. G.	Medio de Besredka	4 "	0,003	333
Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo	" " "	" " "	8 "	0,003	333
Medio de Besredka librado de los bacilos después de su desarrollo	" " "	" " "	12 "	0,003	333
Caldo glicerinado Dorset librado de los bacilos después de su desarrollo .....	" " "	Caldo glicerinado Dorset	32 "	0,01	100
Medio de Sauton librado de los bacilos después de su desarrollo	" " "	Medio de Sauton	19 "	0,005	200

TABLA DE

Antígeno ensayado	Bacilo de Koch cepa utilizada
Bacilo de Koch en suspensión	
acuosa .....	Humana
íd.    íd. ....	"
íd.    íd. ....	Bovina
íd.    íd. ....	"

## ACTIVIDAD DE LOS ANTÍGENOS

Medio de cultivo empleado	Tiempo transcurrido para su desarrollo	Dosis del suero que fija	Actividad de los antígenos
Medio de Besredka	4 días	0,003	333
" " "	8 "	0,003	333
" " "	12 "	0,003	333
Caldo glicerinado Dorset	28 "	0,001	1000
Medio de Sauton	28 "	0,003	333
Medio de Petroff	22 "	0,001	1000
Papa glicerinada	30 "	0,003	333
Medio de Besredka	4 "	0,001	1000
" " "	8 "	0,001	1000
" " "	12 "	0,001	1000
Caldo glicerinado Dorset	31 "	0,005	200
Medio de Sauton	30 días	0,005	200
Medio de Petroff	22 "	0,001	1000
Papa glicerinada	30 "	0,001	1000

TABLA DE ACTIVIDAD DE LOS ANTÍGENOS

Antígeno ensayado	Bacilo de Koch cepa utilizada	Medio de cultivo empleado	Tiempo transcurrido para su desarrollo	Dosis del suero que fija	Actividad de los antígenos
Bacilo de Koch en suspensión acuosa .....	B. C. G.	Medio de Besredka	4 días	0,001	1000
íd.    íd. ....	" " "	" " "	8 "	0,001	1000
íd.    íd. ....	" " "	" " "	12 "	0,001	1000
íd.    íd. ....	" " "	Caldo glicerinado Dorset	32 "	0,003	333
íd.    íd. ....	" " "	Medio de Sauton	19 "	0,003	333
íd.    íd. ....	" " "	Medio de Petroff	22 "	0,001	1000
íd.    íd. ....	" " "	Papa glicerinada	15 "	0,003	333
Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa .....	Humana	Medio de Besredka	4 "	0,003	333
íd.    íd. ....	"	" " "	8 "	0,003	333
íd.    íd. ....	"	" " "	12 "	0,003	333
íd.    íd. ....	"	Caldo glicerinado Dorset	28 "	0,001	1000
íd.    íd. ....	"	Medio de Sauton	28 "	0,005	200
íd.    íd. ....	"	Medio de Petroff	22 "	0,001	1000
íd.    íd. ....	"	Papa glicerinada	30 días	0,003	333

TABLA DE ACTIVIDAD DE LOS ANTÍGENOS

Antígeno ensayado	Bacilo de Koch cepa utilizada	Medio de cultivo empleado	Tiempo transcurrido para su desarrollo	Dosis del suero que fija	Actividad de los antígenos
Bacilo de Koch macerado en suspensión acuosa .....	Bovina	Medio de Besredka	4 días	0,001	1000
íd. íd. ....	"	" " "	8 "	0,001	1000
íd. íd. ....	"	" " "	12 "	0,001	1000
íd. íd. ....	"	Caldo glicerinado Dorset	31 "	0,003	333
íd. íd. ....	"	Medio de Sauton	30 "	0,005	200
íd. íd. ....	"	Medio de Petroff	22 "	0,001	1000
íd. íd. ....	"	Papa glicerinada	30 "	0,003	333
íd. íd. ....	B. C. G.	Medio de Besredka	4 "	0,001	1000
íd. íd. ....	" " "	" " "	8 "	0,001	1000
íd. íd. ....	" " "	" " "	12 "	0,001	1000
íd. íd. ....	" " "	Caldo glicerinado Dorset	32 "	0,003	333
íd. íd. ....	" " "	Medio de Sauton	19 "	0,005	200
íd. íd. ....	" " "	Medio de Petroff	22 "	0,001	1000
íd. íd. ....	" " "	Papa glicerinada	15 "	0,003	333

TABLA DE ACTIVIDAD DE LOS ANTÍGENOS

Antígeno ensayado	Bacilo de Koch cepa utilizada	Medio de cultivo empleado	Tiempo transcu- rrido para su desarrollo	Dosis del suero que fija	Actividad de los antígenos
Extracto acuoso .....	Humana	Medio de Besredka	4 días	0,003	333
id. id. ....	"	" " "	8 "	0,003	333
id. id. ....	"	" " "	12 "	0,003	333
id. id. ....	"	Caldo glicerinado Dorset	28 "	0,001	1000
id. id. ....	"	Medio de Sauton	28 "	0,005	200
id. id. ....	"	Medio de Petroff	22 "	0,001	1000
id. id. ....	"	Papa glicerinada	30 "	0,003	333
id. id. ....	Bovina	Medio de Besredka	4 "	0,001	1000
id. id. ....	"	" " "	8 "	0,001	1000
id. id. ....	"	" " "	12 "	0,001	1000
id. id. ....	"	Caldo glicerinado Dorset	31 "	0,003	333
id. id. ....	"	Medio de Sauton	30 "	0,01	100
id. id. ....	"	Medio de Petroff	22 "	0,001	1000
id. id. ....	"	Papa glicerinada	30 "	0,003	333

TABLA DE ACTIVIDAD DE LOS ANTÍGENOS

Antígeno ensayado	Bacilo de Koch cepa utilizada	Medio de cultivo empleado	Tiempo transcu- rrido para su desarrollo	Dosis del suero que fija	Actividad de los antígenos
Extracto acuoso .....	B. C. G.	Medio de Besredka	4 días	0,001	1000
íd.    íd. ....	" " "	" " "	8 "	0,001	1000
íd.    íd. ....	" " "	" " "	12 "	0,001	1000
íd.    íd. ....	" " "	Caldo glicerinado Dorset	32 "	0,003	333
íd.    íd. ....	" " "	Medio de Sauton	19 "	0,005	200
íd.    íd. ....	" " "	Medio de Petroff	22 "	0,001	1000
íd.    íd. ....	" " "	Papa glicerinada	15 "	0,003	333
Residuo bacilar .....	Humana	Medio de Besredka	4 "	0,005	200
íd.    íd. ....	"	" " "	8 "	0,003	333
íd.    íd. ....	"	" " "	12 "	0,003	333
íd.    íd. ....	"	Caldo glicerinado Dorset	28 "	0,001	1000
íd.    íd. ....	"	Medio de Sauton	28 "	0,005	200
íd.    íd. ....	"	Medio de Petroff	22 "	0,005	200
íd.    íd. ....	"	Papa glicerinada	30 "	0,005	200

TABLA DE ACTIVIDAD DE LOS ANTÍGENOS

Antígeno ensayado	Bacilo de Koch cepa utilizada	Medio de cultivo empleado	Tiempo transcu- rrido para su desarrollo	Dosis del suero que fija	Actividad de los antígenos
Residuo bacilar .....	Bovina	Medio de Besredka	4 días	0,01	100
íd. íd. ....	"	" " "	8 "	0,001	1000
íd. íd. ....	"	" " "	12 "	0,003	333
íd. íd. ....	"	Caldo glicerinado Dorset	31 "	0,01	100
íd. íd. ....	"	Medio de Sauton	30 "	0,01	100
íd. íd. ....	"	Medio de Petroff	22 "	0,005	200
íd. íd. ....	"	Papa glicerinada	30 "	0,003	333
íd. íd. ....	B. C. G.	Medio de Besredka	4 "	0,003	333
íd. íd. ....	" " "	" " "	8 "	0,003	333
íd. íd. ....	" " "	" " "	12 "	0,003	333
íd. íd. ....	" " "	Caldo glicerinado Dorset	32 "	0,01	100
íd. íd. ....	" " "	Medio de Sauton	19 "	0,03	33
íd. íd. ....	" " "	Medio de Petroff	22 "	0,003	333
íd. íd. ....	" " "	Papa glicerinada	15 "	0,003	333

## RESUMEN

El valor antigénico de los medios líquidos donde ha crecido el bacilo de Koch, el de los bacilos y el de sus extractos revela una gran variación, que va de las cifras 33 a 1000, es decir de 1 a 30 aproximadamente.

Conviene que antes de comparar las cifras de los valores más altos y más bajos, estudiemos cada grupo de antígenos ordenadamente de manera tal que puedan aparecer las analogías y diferencias con mayor relieve y las conclusiones fluyan naturalmente.

En los medios líquidos es posible estudiar: a), la partición del poder antigénico entre el líquido de cultivo y los cuerpos bacilares; b), la variación de este coeficiente según el tiempo de cultivo, como así también el valor antigénico absoluto de cada uno de ellos en cada época; c), la solubilidad del antígeno en agua; d), la influencia de la cepa y por último e), el poder antigénico total.

En los medios sólidos será posible estudiar: a), el valor antigénico de los bacilos (valor antigénico total); b), la solubilidad en agua del antígeno; c), la influencia de la cepa. Podrían, por último, estudiarse las cifras que resulten de las comparaciones anteriores y deducirse las conclusiones finales.

## I. MEDIOS LÍQUIDOS

a) *La distribución del poder antigénico entre el líquido de cultivo y los cuerpos bacilares.*

Durante el crecimiento y la multiplicación del bacilo tuberculoso en medios líquidos el intercambio con el medio está favorecido por la superficie de contacto grande y la facilidad de difusión de las sustancias excretadas. Añádase a esta circunstancia la levigación de los cuerpos bacilares y se podrá imaginar que muchas de sus propiedades puedan existir simultáneamente en el cuerpo bacilar y en el líquido de cultivo. Siguiendo más de cerca el conocimiento de la partición de esas sustancias se ha estudiado la actividad de las dos fracciones, bacilar y líquido sobrenadante, en los distintos medios de cultivo.

Se hará notar también que la solubilidad del antígeno en el líquido está sin duda facilitada por la esterilización del cultivo a 100° C. y que muy probablemente sea esa la causa que hace aparecer tanto antígeno disuelto.

Para comparar los resultados más fácilmente se ha ordenado a continuación las cifras correspondientes a cada antígeno; la primera columna corresponde al poder antigénico del medio de cultivo librado de los bacilos y la segunda a los bacilos en suspensión acuosa. En la tercera columna están las cifras del valor antigénico de los bacilos macerados y agitados en solución fisiológica. En la cuarta el extracto acuoso y en la quinta el residuo bacilar.

#### MEDIO DE BESREDKA

De la observación de estos resultados (página N° 692) puede deducirse que la cantidad de antígeno que se disuelve en el medio de cultivo es igual o inferior a la que queda fijada a los bacilos, sea en cultivo de 4 como de 8 ó 12 días. Esta aparente contradicción con los datos comunicados por Urbain y otros, quienes ven disminuir el valor antigénico de los cuerpos bacilares y aumentar el del líquido después de los 4 días de desarrollo, puede ser debida a circunstancias no determinadas, como en primer término lo es la constitución del medio de cultivo. Esto se verifica tanto con la cepa humana como la bovina y el B. C. G.

#### MEDIO DE DORSET Y DE SAUTON

En estos dos medios de cultivo el líquido tiene escasa actividad, quedando prácticamente todo el poder antigénico en los bacilos. Esta diferencia con el medio de Besredka puede ser interpretada sin dificultad si recordamos la forma del desarrollo en ambos medios: En el de Sauton y en el de Dorset en forma de película y en el de Besredka en emulsión o pequeños grumos, que da una superficie de contacto pequeña en los primeros y grande en el segundo.

b) *Variación del poder antigénico con el tiempo de cultivo.*

Este asunto fué investigado solamente para el medio de Besredka (resultados en el cuadro N° 692). Habiéndose podido comprobar que después de los 4 días, el poder antigénico tanto de los bacilos como el del medio líquido permanece sin variación. El tiempo de cultivo, 4 días, aconsejado por Besredka, puede considerarse entonces como el óptimo o por lo menos como el más conveniente, pues el poder antigénico alcanza ya su máximo.

c) *Solubilidad del antígeno en agua.*

La solubilidad del antígeno en agua puede ser ya prevista por los datos precedentes que revelan poder antigénico en el medio de cultivo. La demostración de que esa propiedad es constante puede verse en los cuadros donde están indicadas las cifras de la actividad de la maceración de los bacilos, del líquido de maceración y de los cuerpos bacilares. La comparación debe hacerse entre la columna (3) (macerado de bacilos) y la columna (4) (extracto), cuyas cifras idénticas (con una sola excepción), revelan que la substancia antigénica se disuelve fácilmente en agua.

Además, si comparamos las cifras de las columnas 2 y 3 vemos que el valor antigénico de la suspensión bacilar no se modifica por la maceración y la agitación. En el medio de Sauton, para las cepas humanas y el B. C. G., parece existir una atenuación por el calentamiento y la maceración.

Si la actividad del macerado es igual a la del extracto, deberían los cuerpos bacilares carecer de poder antigénico. Esta consecuencia lógica no la confirman los resultados experimentales, pues en todos los casos se ha podido poner de manifiesto que los bacilos tienen poder antigénico. Hay que hacer observar, sin embargo, que los residuos bacilares no han sido capaces, en todos los casos, de fijar totalmente el complemento hasta con la dosis de 0,05 de suero. Se ha observado una débil hemolisis en todos los tubos. Mas parecería que el mecanismo de fijación fuera en este caso diferente del observado con la substancia soluble.

d) *Influencia de la cepa.*

En el medio de Besredka aparecen las cepas bovinas (B) y B. C. G. con un poder antigénico mayor que la cepa humana (H). Estas diferencias, que son apreciables, deben ser corroboradas por un estudio especial de un mayor número de cepas para cerciorarse de su constancia. Debe tenerse en cuenta, además, que el intervalo entre 0,003 y 0,001 usado en la fijación es muy grande y puede la diferencia ser menor si se usaran dosis intermedias.

En los medios de Sauton y Dorset no son visibles diferencias regulares. Prácticamente la cepa humana y bovina tienen valor antigénicos comparables.

e) *Poder antigénico total.*

El valor de los antígenos preparados con el medio de Besredka se revela más uniforme y en general más alto que el de los antígenos de Sauton y de Dorset.

## II. MEDIOS SÓLIDOS

a) *Valor antigénico de la emulsión de bacilos.*

Los bacilos crecidos en medios sólidos (de Petroff y de papa glicerinada) tienen, suspendidos en solución fisiológica, una actividad antigénica apreciable. Revelan los antígenos del medio de Petroff una mayor actividad que los de la papa glicerinada.

Se puede decir, además, que la actividad de este antígeno (Petroff) es superior a la de los obtenidos en cualquiera de los otros medios estudiados en este trabajo.

b) *Solubilidad del antígeno.*

La resistencia del antígeno al calentamiento y a la maceación se vuelven a comprobar en estos casos (columnas 2 y 3); igual puede decirse de la solubilidad (columnas 3 y 4).

Con los residuos bacilares pasa otro tanto que lo descrito en el caso de los antígenos obtenidos por cultivo en medios líquidos.

c) *La influencia de la cepa* no se hace presente en ninguno de los tres casos que se han estudiado.

CUADROS DE DEMOSTRACIÓN DE LOS VALORES ANTIGÉNICOS

*Antígenos obtenidos del medio de Besredka*

Humano	Días	1	2	3	4	5
	4	333	333	333	333	200
	8	200	333	333	333	333
	12	200	333	333	333	333
Bovino	Días	1	2	3	4	5
	4	333	1000	1000	1000	100
	8	200	1000	1000	1000	1000
	12	333	1000	1000	1000	333
B. C. G.	Días	1	2	3	4	5
	4	333	1000	1000	1000	333
	8	333	1000	1000	1000	333
	12	333	1000	1000	1000	333

CUADROS DE DEMOSTRACIÓN DE LOS VALORES ANTIGÉNICOS

*Antígenos obtenidos del caldo glicerinado Dorset*

	1	2	3	4	5
Humano	100	1000	1000	1000	1000
Bovino	100	(?)	333	333	100
B. C. G.	100	333	333	333	100

*Antígenos obtenidos del medio de Sauton*

	1	2	3	4	5
Humano	100	333	200	200	200
Bovino	333	200	200	100	100
B. C. G.	200	333	200	200	33

*Antígenos obtenidos del medio de Petroff*

	—	2	3	4	5
Humano	—	1000	1000	1000	200
Bovino	—	1000	1000	1000	200
B. C. G.	—	1000	1000	1000	333

*Antígenos obtenidos de la papa glicerinada*

	—	2	3	4	5
Humano	—	333	333	333	200
Bovino	—	1000 (?)	333	333	333
B. C. G.	—	333	333	333	333

## CONCLUSIONES

1º El bacilo de Koch cultivado en medios sólidos (Petroff y papa glicerizada) y líquidos (Besredka, Sauton y caldo glicerizado Dorset) tiene propiedades antigénicas para fijar el complemento con un inmun-suero artificialmente obtenido.

2º Las propiedades antigénicas se reparten entre los bacilos y el medio líquido. El poder antigénico de los bacilos es igual al del líquido en algunos casos y mayor en casi todos.

3º La suspensión y maceración de los bacilos en solución fisiológica conserva las propiedades antigénicas.

4º La maceración y el calentamiento de los bacilos determina la solubilización del antígeno. Los cuerpos bacilares (residuo bacilar) no pierden totalmente sus propiedades antigénicas, pero la fijación es débil aún con dosis grandes de suero; parecería que el antígeno tuviera distintas modalidades o fuera complejo.

5º Las cepas de bacilo de Koch usadas humana, bovina y B. C. G., no revelan grandes diferencias antigénicas (para un suero polivalente).

6º El tiempo de cultivo (4, 8 y 12 días) en el medio de Besredka no modifica el valor antigénico, que llega a su máximo a los 4 días (\*).

7º Los medios con huevo — Besredka (líquido) y Petroff (sólido) — son los que permiten obtener antígenos de mayor actividad. El último es el que mejores antígenos ha dado — los antígenos en medios sin huevo — caldo glicerizado Dorset, Sauton y papa, dan antígenos mucho más débiles, especialmente los obtenidos en el medio sintético de Sauton.

8º En la práctica, teniendo en cuenta la facilidad de preparación del medio de Besredka y la diferencia poco apreciable del valor antigénico entre éste y otros medios, es aconsejable su uso para la preparación de un antígeno de *Mycobacterium tuberculosis* para la fijación del complemento.

---

(\*) No fueron estudiadas las propiedades en los tres primeros días.