

ESTUDOS SÔBRE A REAÇÃO DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO EM BRUCELOSE. IV — CORRELAÇÃO ENTRE OS TÍTULOS POR AGLUTINAÇÃO E POR FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO, DETERMINADOS COM ANTÍGENOS DE *BRUCELLA ABORTUS*, EM SOROS HUMANOS E EM SOROS DE COELHOS INOCULADOS

José Oliveira de ALMEIDA (1)

RESUMO

De um total de 103.403 soros humanos, 444 reagiram em fixação do complemento com antígeno de *Brucella abortus*, e 338 dêles foram titulados. O título aglutinante foi determinado em unidades internacionais, como a diluição do soro capaz de produzir 50% de aglutinação da suspensão de *Brucella abortus* cuja aglutinabilidade foi aferida com o Sôro Padrão Internacional anti-*B. abortus*, fornecido pela Organização Mundial de Saúde. O título por reação de fixação do complemento foi determinado pela relação linear entre soro e complemento necessário para 50% de hemólise, em reações com o antígeno de *B. abortus*, em dose de máxima reatividade.

Foi encontrado um coeficiente de correlação de 0,580 entre os logaritmos dos títulos por aglutinação e os logaritmos dos títulos por fixação do complemento em soros humanos. A correlação é positiva e significativa ao nível de 0,01, sendo 33,6% da variância total devido à regressão. Quando foram computados os logaritmos dos títulos por aglutinação contra os logaritmos das médias dos títulos por fixação do complemento, 95,3% da variância total foram devidos à regressão.

As reações praticadas em soros de coelhos, empregando antígenos de *Brucella abortus*, quando comparados os logaritmos de seus títulos, mostraram correlação estatisticamente significativa ao nível de 0,01. Quando se compararam os logaritmos dos títulos por aglutinação, com os logaritmos das médias dos títulos por fixação de complemento, correlação positiva foi significante ao nível de 0,01 com reações praticadas com antígeno total e com antígeno de brucelas extraídas. Com o antígeno de BOIVIN, a correlação não foi significante, embora positiva.

INTRODUÇÃO

Embora a reação de fixação do complemento seja menos usada que a reação de aglutinação, há um consenso de opiniões sobre o seu valor no diagnóstico da brucelose crônica e na diferenciação sorológica entre animais infetados e os vacinados¹⁰.

Resultados discrepantes por aglutinação, dependentes da aglutinabilidade dos antígenos (EISELE & col.⁵) e dos critérios usados em sua interpretação, STABLEFORTH⁹ puderam ser evitados com a padronização do método, empregando-se o "soro padrão inter-

(1) Professor-Catedrático do Departamento de Microbiologia e Imunologia, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, Brasil

nacional anti-*Brucella abortus*" (STABLEFORTH⁹).

De acordo com as recomendações da Comissão de Peritos em Brucelose, da FAO/OMS¹², adotamos a aglutinação de 50% como critério de leitura da capacidade aglutinante do soro em estudo. Ao mesmo tempo, paralelamente, é feita a reação com diluições crescentes do soro padrão internacional, que nas condições em que foi dosado, produzia 50% de aglutinação na diluição a 1/1.000. Proporcionalmente se calcula o título do soro, em unidades internacionais, segundo o método proposto por STABLEFORTH⁹ e JERNE⁷.

Recentemente, a Comissão de Peritos em Brucelose da FAO/OMS¹² recomendou o uso do soro padrão internacional para a padronização da reação de fixação do complemento para brucelose, considerando ser altamente desejável que os títulos dos soros, de valor diagnóstico, fossem dados em termos de submúltiplos do soro padrão.

Essa recomendação é válida quando se examinam soros de bovinos, que, como o soro padrão internacional, apresentam curvas de isofixação (ALMEIDA¹), do tipo I, com a suspensão de *Brucella abortus*, em reações de fixação do complemento (ALMEIDA²). Como com soros humanos o tipo mais frequente de isofixação é o tipo II, mostrando inibição da reação por excesso de antígeno, não se recomenda adotar o soro padrão internacional como referência para a reação quantitativa de fixação de complemento com soros humanos (ALMEIDA³).

Assim o título do soro, por reação de fixação do complemento, é dado como a inclinação da linha de regressão que indica a proporcionalidade entre soro e complemento, em reações com a dose de antígeno de máxima reatividade (ALMEIDA²).

Adotando o método de aglutinação recomendado pela Organização Mundial de Saúde, determinamos os títulos de 338 soros humanos, reagentes em fixação do complemento, com antígeno de *Brucella abortus* e procuramos saber se havia correlação estatisticamente significativa entre seus títulos. Paralelamente a mesma investigação foi le-

vada a efeito em soros de coelhos imunizados com antígenos de *B. abortus*.

Em um e outro grupo foi encontrada correlação positiva e significativa entre os logaritmos dos títulos por aglutinação e os logaritmos dos títulos (e de suas médias) por fixação do complemento quantitativa.

MATERIAL E MÉTODOS

Antígeno de B. abortus para reações de aglutinação em tubos

A suspensão de *Brucella abortus* usada como antígeno nas provas de aglutinação em tubos foi preparada da cultura W-99, segundo o método empregado no Laboratório Veterinário do Ministério de Agricultura e Pesca, de Weybridge, Surrey, Inglaterra¹¹.

A padronização da suspensão quanto à aglutinabilidade foi feita com o soro padrão internacional anti-*Brucella abortus*, fornecido por aquele laboratório, por intermédio da Organização Mundial de Saúde.

Antígenos de B. abortus para as reações de fixação do complemento

Os antígenos de *Brucella abortus* foram preparados de acordo com a técnica descrita anteriormente (ALMEIDA²). Três antígenos foram experimentados: o antígeno total, que é a suspensão de *Brucella abortus*, em solução salina boratada, o antígeno solúvel em ácido tricloroacético⁸ e a suspensão de brucelas depois de extraídas por esse ácido.

A dose de antígeno empregada nas reações quantitativas de fixação do complemento foi determinada pelo método de isofixação (ALMEIDA¹) e corresponde àquela dose de antígeno na zona em que as linhas isohemolíticas são paralelas entre si, ALMEIDA².

Soros humanos

Os soros que apresentaram reação de fixação do complemento com o antígeno total de *Brucella abortus*, foram selecionados daqueles que tinham se mostrado reagentes na

reação com antígeno tríplice (cardiolipina, brucelas e antígeno de *T. cruzi*), segundo a técnica de ALMEIDA & col.⁴.

Foram examinados por esta reação 103.403 sangues provenientes do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto e dos bancos de sangue da cidade, de 1964 a 1968. Dos 18.225 soros reagentes, 444 apresentaram reação positiva com o antígeno de *B. abortus* e, dêles, 338 foram titulados por fixação do complemento e por aglutinação.

Soros de coelhos inoculados

Doze coelhos, em grupos de quatro foram inoculados com os três antígenos preparados de *Brucella abortus*, com 4 doses de 1,0 ml, com intervalo de três dias. Antes de cada inoculação venosa, retirou-se um pouco de sangue para as titulações. A sangria foi feita cinco dias depois da última injeção. Dos coelhos sangrados, seis sobreviveram. Foram deixados em repouso por 38 dias e depois foram reinoculados com três doses de 0,5 ml de antígeno. A sangria se fez cinco dias depois da última inoculação.

Da primeira imunização foram colhidos 36 soros e da segunda 24, totalizando 60 soros.

Métodos de titulação dos soros

As reações de aglutinação foram feitas de acôrdo com a técnica recomendada pela Organização Mundial de Saúde¹², em tubos, aferindo-se a aglutinabilidade da suspensão de *B. abortus*, com diluições do Sôro Padrão Internacional aglutinante anti-*B. abortus*⁹.

A diluição final na mistura antígeno-sôro que produz 50% de aglutinação depois de 20 horas a 37°C, determina o título aglutinante do sôro. O título achado é então corrigido pelo título obtido com o sôro padrão (JERNE⁷), sendo expresso em *unidades aglutinantes*.

Nas reações de fixação do complemento por método quantitativo determina-se a relação linear entre sôro e o número de uni-

dades do complemento necessárias para 50% de hemólise. O título do sôro é dado como o valor numérico da inclinação dessa linha de regressão (ALMEIDA³).

RESULTADOS

Soros humanos

Os resultados obtidos nas provas de aglutinação com a suspensão de *Brucella abortus* e nas dosagens dos soros por método quantitativo de fixação do complemento, são apresentados no Quadro I.

Um só antígeno, a suspensão de *B. abortus*, foi empregado nas reações de fixação do complemento, com os 338 soros humanos.

Soros de coelhos inoculados

Os títulos determinados em 60 soros de coelhos imunizados com antígenos de *B. abortus* são apresentados no Quadro II.

Nas provas de fixação do complemento foram empregados os três antígenos preparados de *B. abortus* e os resultados são estudados separadamente.

Análise dos resultados

A análise dos resultados se fez primeiramente, procurando correlacionar os títulos por aglutinação com os de fixação do complemento, grupando-os em classes que diferem pelo valor do logaritmo de dois.

Quando se computam os logaritmos dos títulos por aglutinação e os logaritmos das médias dos títulos por fixação do complemento, a correlação encontrada tem um índice muito próximo da unidade, denunciando serem lineares os pontos projetados em coordenadas logarítmicas. O Quadro III mostra os valores determinados para o índice de correlação e a variança da linha de regressão, nos soros humanos.

A análise de variança dos resultados obtidos com os soros dos coelhos inoculados com antígenos de *Brucella abortus*, é apresentada no Quadro IV.

ALMEIDA, J. O. de — Estudos sobre a reação de fixação do complemento em brucelose. IV — Correlação entre os títulos por aglutinação e por fixação de complemento, determinados com antígenos de *Brucella abortus*, em soros humanos e em soros de coelhos inoculados. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:55-63, 1970.

QUADRO I

Títulos de 338 soros humanos pelas reações de aglutinação e de fixação do complemento com antígeno total de *Brucella abortus*

N.º de soros (338)	Títulos por aglutinação U.I.	Títulos por fixação do complemento	Título médio em fixação do complemento
		$T_s = \frac{\Delta K'_{s,A}}{\Delta S}$	
50	20	60(11)-80(1)-100(4)-120(10)-140(5)-160(3) 240(4)-260(4)-300(5)-320(1)-360(1)-1500(1)	184
46	40	60(2)-100(1)-140(1)-160(1)-180(1)-200(1) 240(2)-260(9)-280(4)-300(3)-320(3)-340(1) 360(1)-640(1)-660(2)-680(1)-720(1)-740(1) 760(2)-800(2)-1180(1)-1280(1)	371
74	80	60(6)-100(1)-120(4)-140(5)-160(1)-200(1) 220(1)-240(3)-260(4)-280(6)-300(2)-320(2) 340(1)-360(1)-500(1)-560(1)-580(3)-600(1) 620(2)-640(1)-660(1)-680(1)-700(3)-720(1) 740(2)-780(1)-800(1)-1000(1)-1160(2)-1200(1) 1220(1)-1240(2)-1280(1)-1420(1)-1440(1) 1480(2)-1500(1)-1540(1)-3740(1)-6640(1)	660
67	160	60(1)-140(3)-160(1)-180(2)-220(2)-240(5) 260(5)-280(5)-300(1)-320(3)-400(1)-440(1) 640(1)-680(3)-780(1)-800(1)-860(2)-1180(1) 1240(2)-1300(2)-1340(1)-1360(2)-1380(1) 1400(1)-1540(1)-1580(1)-1600(1)-1620(1)-1640(1) 1740(2)-3360(1)-3860(1)-6240(1)-6740(1)	868
24	320	140(1)-240(2)-260(1)-280(1)-320(1)-500(1) 620(1)-640(1)-660(1)-700(1)-720(1)-1200(1) 1240(1)-1320(1)-1460(1)-1480(1)-1500(1) 1600(1)-3260(1)-3660(1)-3880(1)-5140(1)	1294
56	640	100(1)-120(1)-140(1)-160(1)-220(1)-240(2) 260(2)-280(3)-300(2)-320(1)-340(2)-360(1) 380(1)-520(1)-560(1)-600(2)-620(2)-700(1) 720(2)-1000(1)-1260(1)-1340(1)-1360(2) 1560(3)-1600(1)-1640(1)-1660(1)-2940(1) 3020(1)-3200(1)-3600(1)-3740(1)-3860(1) 4900(1)-5900(1)-6600(1)-6700(1)-6800(1) 6940(1)-7200(3)-7240(1)	2032
13	1280	240(1)-300(1)-620(1)-740(1)-1200(1)-1300(1) 1740(1)-3020(1)-4000(1)-5900(1)-8120(1) 8200(1)-11800(1)	3629
8	2560	1140(1)-1400(1)-2760(1)-4180(1)-6800(1) 7000(2)-15700(1)	5747

() N.º de soros com o mesmo título

ALMEIDA, J. O. de — Estudos sobre a reação de fixação do complemento em brucelose. IV — Correlação entre os títulos por aglutinação e por fixação de complemento, determinados com antígenos de *Brucella abortus*, em soros humanos e em soros de coelhos inoculados. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:55-63, 1970.

QUADRO II

Títulos por aglutinação e por fixação do complemento em 60 soros de coelhos inoculados com antígenos de *B. abortus*

Títulos por aglutinação U.I.	Títulos por reação de fixação do complemento com		
	Antígeno total	Antígeno Boivin	Brucelas extraídas
Primeira imunização			
80	180	26	60
160	200-180-196-190(2)	28-29(2)-30(2)	85-80-150-170(2)
320	123-177(2)-200(2)	35-27(2)-45-47	120-140(3)-180
640	855-880-870-950	31-44-46-49	370-420-640-1500
1600	700-740-820-950-1600-2000-3560	35-39-100-140-150-250-270	500-620-670-800-1000-1500
3200	850-1400-2900-2750-2940-3000-3500-3750-3030-7400-7850	140-250-175-250-240-250	600-800(3)-1000-2870-1230
6400	9850-1860-3500	80-100-200-275-290-665-200-300	1700-2400-620-1250-3460-1670-1500
Segunda imunização			
2000	330-1000	140-190	250-400
4000	1200-1360-460-1000(2)	260-456-140-200-140	500-1120-300-800-400
6000	900-1100	250-380	1250-1250
8000	1300-360-1500-2200-800-1200-820-1320-1150	160-280-320-400-240-200-740-900-190	400-760-820-1100-500-428-520-1120-720
16000	7500-2200	250-380	1250-1250
32000	4900-2200-4900-11000-12800	340-400-1300-1100-1400	1500-1300-5400-12200-2800

() N.º de soros com o mesmo título

QUADRO III

Análise de variância. Correlação entre os logaritmos dos títulos de soros humanos por aglutinação e os logaritmos dos títulos ou das médias dos títulos determinados por fixação do complemento, com antígenos de *Brucella abortus*

I. Correlação entre os logaritmos dos títulos em aglutinação e os logaritmos dos títulos em fixação do complemento

N.º de soros	N.º de pares	Coefficiente de correlação r	Valor de z para r	Erro padrão de z	Teste t $p <$	Variança total	Correlação achada (*)
338	—	0,580	0,6625	0,054	0,01	33,6%	Significante

II. Correlação entre os logaritmos dos títulos por aglutinação e os logaritmos das médias dos títulos em fixação C'

338	8	0,976	2,2054	0,422	0,01	95,3%	Significante
-----	---	-------	--------	-------	------	-------	--------------

(*) Uma correlação é significativa quando z é maior que três vezes o seu erro padrão

ALMEIDA, J. O. de — Estudos sobre a reação de fixação do complemento em brucelose. IV — Correlação entre os títulos por aglutinação e por fixação de complemento, determinados com antígenos de *Brucella abortus*, em soros humanos e em soros de coelhos inoculados. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:55-63, 1970.

QUADRO IV

Análise de variância. Correlação entre os logaritmos dos títulos por fixação do complemento e os logaritmos dos títulos por aglutinação, em soros de coelhos inoculados com antígenos de *Brucella abortus*

I. Correlação entre os logaritmos da média dos títulos em Fix.C' e os logaritmos dos títulos por aglutinação

Antígeno usado em F.C'	N.º de soros	N.º de pares	Coefficiente de correlação	Valor de z	Erro padrão de z	Teste t $p <$	Variância total	Correlação (*)
Total	36	7	0,961	1,96	0,50	0,01	92%	Significante
	24	5	0,978	2,25	0,71	0,01	95%	Significante
	60	12	0,893	1,44	0,33	0,01	79%	Significante
Boivin	36	7	0,721	0,91	0,50	0,10	52%	Não significativa
	24	5	0,773	1,03	0,71	0,10	59%	Não significativa
	60	12	0,956	1,90	0,33	0,01	91%	Significante
Brucelas extraídas	36	7	0,994	2,91	0,50	0,01	98%	Significante
	24	5	0,925	1,62	0,71	0,01	85%	Significante
	60	12	0,840	1,22	0,33	0,01	70%	Significante

II. Correlação entre os logaritmos dos títulos por fixação do complemento e os logaritmos dos títulos por aglutinação

Total	36	36	0,913	1,55	0,17	0,01	83%	Significante
	24	24	0,951	1,85	0,22	0,01	90%	Significante
	60	60	0,711	0,89	0,13	0,01	50%	Significante
Boivin	36	36	0,890	1,42	0,17	0,01	79%	Significante
	24	24	0,605	0,70	0,22	0,01	36%	Significante
	60	60	0,746	0,96	0,13	0,01	55%	Significante
Brucelas extraídas	36	36	0,900	1,47	0,17	0,01	81%	Significante
	24	24	0,802	1,11	0,22	0,01	64%	Significante
	60	60	0,922	1,60	0,13	0,01	85%	Significante

(*) Uma correlação é significativa quando z é maior que três vezes o seu erro padrão

ALMEIDA, J. O. de — Estudos sôbre a reação de fixação do complemento em brucelose. IV — Correlação entre os títulos por aglutinação e por fixação de complemento, determinados com antígenos de *Brucella abortus*, em soros humanos e em soros de coelhos inoculados. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:55-63, 1970.

DISCUSSÃO

Estudos comparativos entre aglutinação e fixação do complemento em soros de homem ou de animais com brucelose, empregando técnicas as mais diversas, são difíceis de analisar.

Em 1959 ELBERG⁶ empregando o antígeno de BOIVIN⁸, preparado de *B. melitensis*, para reações de fixação do complemento, pelo método de KOLMER, e usando uma suspensão de brucelas em solução salina a 5%, pôde estudar a correlação entre os títulos determinados pelos dois métodos, em um total de 88 soros. Encontrou um coeficiente de correlação de 0,538, indicando uma significativa dependência entre a aglutinação e fixação do complemento, ao nível de 0,1%.

Computados os dados de ELBERG⁶, em classes que diferem entre si pelo logaritmo de dois, encontramos os seguintes valores: coeficiente de correlação 0,566. Valor de z correspondente: 0,642. Desvio padrão $z = 0,108$. Assim a correlação é positiva e significativa, pois r encontrado está dentro dos limites de 0,735 e 0,327 correspondentes a $z \pm 3 \delta_z$. O valor de t ($= 2,08$) para 86 graus de liberdade mostra a significância da correlação ao nível menor que 0,05.

O Quadro III mostra a análise dos dados por nós obtidos no exame de 338 soros humanos, reagentes em provas de fixação do complemento, com antígeno de *Brucella abortus*.

Quando se compararam os logaritmos dos títulos determinados por aglutinação com os logaritmos dos títulos por fixação do complemento, achou-se uma correlação positiva e significativa, embora somente 33,6% da variância fôsem satisfeitos pela regressão. Isso significa que, conhecendo-se o título do soro por aglutinação, não se pode determinar o valor correspondente encontrado por fixação do complemento.

Assim em casos individuais pode ser encontrada grande discrepância entre os títulos determinados pelos dois métodos soroló-

gicos, como se pode verificar nos Quadros I e II.

Quando se computam os logaritmos das médias dos títulos por fixação do complemento contra os logaritmos dos títulos por aglutinação, a correlação é maior, significativa, com 95,3% da variância sendo cobertos pela linha de regressão, nos 338 soros humanos.

Com os soros dos coelhos inoculados com antígenos de *Brucella abortus*, os títulos por fixação do complemento, com os antígenos total, o de BOIVIN e a suspensão de brucelas extraídas, quando computados em logaritmos contra os logaritmos dos títulos de aglutinação, tiveram correlação positiva e significativa tanto durante a primeira imunização, como na segunda e mesmo quando se somaram os dados das duas imunizações (Quadro IV).

É de se notar que o efeito da primeira dose de antígeno, dada depois do período de repouso, que se seguiu à primeira imunização, fêz-se sentir sôbre os títulos aglutinantes, com muito maior intensidade que o observado sôbre a reatividade em fixação do complemento, como mostra um exemplo, a Fig. 1. Mesmo nessas condições manteve-se a correlação significativa e positiva, ao nível de 0,01.

Sômente em reações de fixação do complemento, com o antígeno de BOIVIN, observou-se correlação não significativa, nos soros da primeira e da segunda série de inoculações, quando se computaram os logaritmos das médias dos títulos por fixação, em comparação com os logaritmos dos títulos por aglutinação.

Na análise estatística feita preferiu-se empregar a transformação de r (coeficiente de correlação) em z , para provar a significância dos resultados, a determinar-se o erro provável de r , que tende a exagerar a confiança no coeficiente de correlação. Achando-se o valor de r , determina-se z e o seu erro padrão. Então computamos três vezes o erro padrão de z que, se menor que z , indicará ser r significativa, estatisticamente. O teste t confirma o achado, como se verifica no Quadro IV.

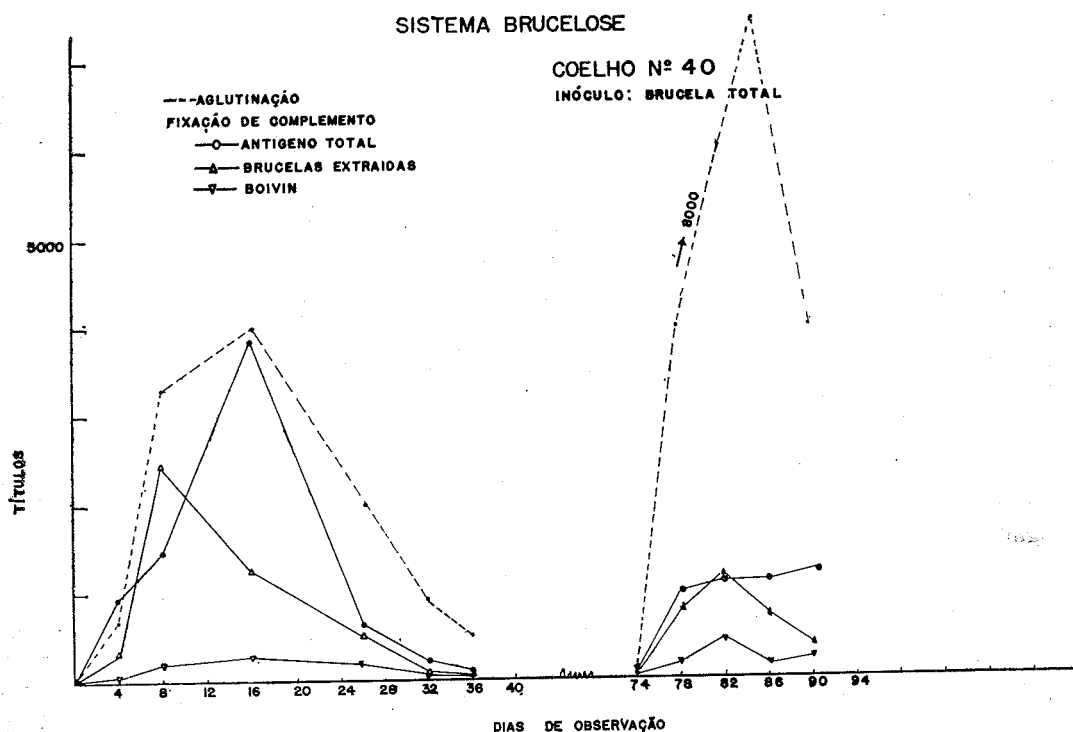


Fig. 1

CONCLUSÕES

1) Nos 338 soros humanos que reagiram em fixação do complemento com o antígeno total de *Brucella abortus*, os logaritmos dos títulos determinados por esse método e os logaritmos dos títulos encontrados por aglutinação mostraram uma correlação positiva e significativa, ao nível de 0,01. Como a variância total satisfaz apenas a 33,6% dos dados, não se poderá saber o título em uma reação, conhecendo-se o título obtido pela outra.

2) Foi encontrada correlação positiva e significativa, ao nível de 0,01, entre os logaritmos das médias dos títulos por fixação do complemento e os logaritmos dos títulos por aglutinação. Aqui a variância satisfaz a 95,3% dos dados, podendo-se determinar o título médio de fixação do complemento, conhecendo-se o título aglutinante.

3) Existe correlação positiva e significativa entre os logaritmos dos títulos dos so-

ros de coelhos, determinados durante a primeira e segunda série de inoculações, isoladamente ou em conjunto. Empregando os antígenos total, o de BOIVIN e o de brucelas extraídas, em fixação do complemento, a variância total foi de 36% a 90%.

4) Correlação positiva, mas não significativa ao nível de 0,01, foi encontrada quando se computaram os logaritmos das médias dos títulos por fixação do complemento, em reações com antígeno de BOIVIN e soros de coelhos, da primeira e da segunda imunização, contra os logaritmos dos títulos aglutinantes. Quando os soros foram analisados em conjunto, a correlação achada foi positiva e significativa, a variância total sendo de 91%.

SUMMARY

Studies on the complement-fixation test in brucellosis. IV — Correlation between agglutination and complement-fixation titers,

ALMEIDA, J. O. de — Estudos sôbre a reação de fixação do complemento em brucelose. IV — Correlação entre os títulos por aglutinação e por fixação de complemento, determinados com antígenos de *Brucella abortus*, em soros humanos e em soros de coelhos inoculados. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:55-63, 1970.

determined with Brucella abortus antigens, in human sera and in sera from inoculated rabbits

Complement fixation with triple antigen (cardiolipin, *B. abortus* and *T. cruzi* extract) performed in 103,403 human sera, detected 444 reactors with *Brucella abortus* antigen. From these, 338 sera were titrated by agglutination and by the quantitative complement fixation test.

The agglutination titer was determined by the highest dilution at which 50 per cent agglutination was obtained with the *B. abortus* suspension standardized with the International Standard Anti-*Brucella abortus* serum. The complement fixation titer was determined by the linear relationship between serum and the number of units of complement required for 50 per cent hemolysis.

It was found a linear correlation coefficient of 0.580 between the logarithms of the serum titers by agglutination and by complement fixation tests. The correlation was positive and significant ($P < 0.01$) and 33.6 per cent of the total variance was due to regression.

When the logarithms of the agglutination titers were computed against the logarithms of the means of the titers by complement fixation, it was found that 95.3 per cent of the total variance was due to regression.

The titrations of 60 sera from 12 rabbits inoculated with *Brucella abortus antigens*, showed the same type of correlation, between the logarithms of their titers. However, when the BOIVIN type of antigen was employed in the complement fixation test, the correlation was positive, but not significant at the level of 0.01.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, J. O. de — Isofixation curves as a method of standardization of quantitative complement fixation test. *J. Immun.* 76:259-263, 1956.
2. ALMEIDA, J. O. de — Estudos sôbre a reação de fixação do complemento em bru-

celose. II — Os tipos fundamentais de suas curvas de isofixação. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:397-414, 1967.

3. ALMEIDA, J. O. de — Estudos sôbre a reação de fixação do complemento em brucelose. III — Determinação do complexo imune em termos de soro ou de antígeno, pela sua relação linear com o complemento. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10: 141-157, 1968.
4. ALMEIDA, J. O. de; FREITAS, J. L. P. & BRANDÃO, H. — Complement fixation tests with triple antigen for syphilis, tuberculosis, leprosy or Chagas' disease in blood banks. *Amer. J. Trop. Med.* 3:490-494, 1954.
5. EISELE, C. W.; McCULLOUGH, N. B. & BEAL, G. A. — Discrepancies in the agglutination test for brucellosis as performed with various antigens and as reported from different laboratories. *J. Lab. & Clin. Med.* 32:847-853, 1947.
6. ELBERG, S. S. — Immunization against *Brucella* infection. 7. Immunological and epidemiological studies in Córdoba, Spain. *Bull. Org. Mond. Santé* 20:1033-1051, 1959.
7. JERNE, N. K. — The "unit" in preference to the "titre" as a measure of agglutinating activity. *Bull. W. H. O.* 10:937-940, 1954.
8. PIROSKY, I.; PIROSKY, R. & D'ALESSANDRO, N. V. — El antígeno glúcido-lípido como fijador de complemento. I — En *Brucella*. *Rev. Inst. Bact. Malbran* 10:135-143, 1941.
9. STABLEFORTH, A. W. — The international standard for anti-*Brucella abortus* serum. *Bull. W. H. O.* 10:927-935, 1954.
10. STABLEFORTH, A. W. — The complement-fixation test in bovine brucellosis. *Wld. Hlth. Org., Agenda item 5.2.2.FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis*, 1963.
11. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Coloque OMS/FAO sir les zoonoses. Palais des Nations. Geneve*, 1954, págs. 101-127.
12. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Technical Report n.º 289. Joint FAO/WHO. Expert Committee on Brucellosis. 4th Report. Geneve*, 1964.

Recebido para publicação em 17/6/1969.