

OBTENCION DE SUEROS ANTI-GLOBULOS ROJOS PARA EL LOCUS A EN GALLINAS

P O R
F. ALAY

R E S U M E N

Se describen los métodos utilizados para obtener sueros isoimunes anti-glóbulos rojos en la gallina.

Se describe la técnica empleada para obtener sueros reactivos mono-específicos para tres alelos del locus A: A_2 , A_3 y A_5 .

Se establece que los sueros reactivos obtenidos presentan más de una especificidad.

Se discute la importancia derivada de la utilización de estos sueros reactivos para aplicarlos al estudio de problemas de interés en Genética.

A B S T R A C T

The techniques to obtain isoanti red blood sera against A locus in chickens is described.

The sera reactivos obtained against the alleles A_2 , A_3 and A_5 have more than one specificity.

The importance of these sera to solve some interesting thematics in genetics is discussed.

I N T R O D U C C I O N

La obtención de sueros isoimunes anti-glóbulos rojos en gallina como reactivos utilizables para describir el genotipo de la gallina (marcadores genéticos) ofrece un interés considerable tanto desde el punto de vista de la Genética básica, como de la Genética aplicada a resolver problemas de interés inmediato.

Las características y métodos de obtención de estos reactivos en esta especie fueron establecidos por Gilmour (Gilmour 1969) y luego por Briles (Briles W.E. et al 1950). Observaron que mediante su uso era posible detectar determinados fenotipos codominantes que obedecían a genes que segregan en forma mendeliana, a semejanza de lo que ocurre en el hombre para el sistema ABO.

Actualmente se describen para la gallina 11 loci designados por letras mayúsculas y sus alelos por un número arábigo subíndice. Buen número de estos genes ha sido adscrito a grupos de ligamiento (Somes 1973).

En líneas generales los sueros reactivos obtenidos pueden ser de interés para medir una serie de parámetros en esta especie o en

otra en que se desee emplear una técnica semejante a la que aquí describiremos.

Los puntos de interés son los siguientes:

a) Permiten establecer la relación existente entre el gen y su expresión en una estructura proteica. Si pensamos que la membrana del eritrocito está constituida por estructuras macromoleculares que obedecen a genes y que además presentan propiedades antigénicas; queda claro que mediante la elaboración de sueros reactivos para esas estructuras es posible detectar esta relación, con todo lo que esto significa (Kabat 1952).

b) Controles de origen. En genética aplicada ya que los sueros reactivos preparados permiten en gran medida tener la seguridad respecto al origen de los reproductores empleados y la descendencia que deben generar. Esto es de importancia para aquellos planteles dedicados a explotación comercial. (Briles W.E. 1971).

c) Estudios de genética poblacional. Permiten realizar adecuados cálculos de la frecuencia génica y medir el nivel de inbreeding que para esos genes presenta un grupo, una raza o una especie determinada. (Gilmour D.G. 1969).

d) Examen de la relación existente entre estos alelos y caracteres de importancia económica (fertilidad, velocidad de crecimiento, resistencia a enfermedades, etc.). Este aspecto ha sido y es profundamente estudiado. Se ha visto así la relación existente entre diferentes alelos de los diversos loci y los factores ya mencionados (Briles W.E. 1970).

e) Estudios taxonómicos y evolutivos. Al disponer de sueros reactivos para ésta u otra especie es posible describir y calcular la frecuencia génica de esos alelos para el pool de genes de la especie en cuestión. Al comparar estas frecuencias génicas con las de otras especies relacionadas o no, se hace posible establecer relaciones de proximidad o alejamiento entre ellas (Irwin, M.R. 1974).

Para iniciar un estudio de esta naturaleza se requiere en lo posible contar con una población homogénea con un alto coeficiente de inbreeding que mantenga una frecuencia alta de relativamente pocos alelos. Lo anterior permite elaborar isoinmunsueros capaces de reconocer un número limitado de características antigénicas. En caso contrario (escaso inbreeding) los sueros reactivos que se elaboren serán demasiado complejos y por lo tanto su estudio más dificultoso.

Para el presente trabajo hemos utilizado reproductoras de raza pesada Plymouth Rock y mantenidas en inbreeding por varios años.

La presente comunicación describe los métodos seguidos para obtener isoinmunsueros monoespecíficos antiglobulinos rojos y se discute la utilización de los mismos. Abordamos el locus A y sus alelos A₂, A₃ y A₅.

MATERIAL Y METODOS

Iniciamos este estudio conociendo previamente el genotipo para los loci A, E y B de nuestras gallinas. Muestras de sangre fueron tipificadas por el Dr. C.C. Oosterlee de la Universidad de Agricultura, Wageningen Holanda, esto nos permitió ahorrar una gran cantidad de tiempo.

En el Cuadro N^o 1 señalamos las gallinas utilizadas y su genotipo para los loci mencionados.

El Cuadro N^o 2 describe el plan de inmunizaciones seguido: Con el objeto de obtener sueros antieritrocitarios es necesario inyectar por vía endovenosa (vena alar) una gallina designada como "receptora" con sangre de otra designada como "dadora". El dador de glóbulos rojos debe presentar la misma constitución genotípica para todos los loci en juego menos en uno de sus alelos. Loci A, E y B en este Cuadro. Este alelo distinto será el que finalmente provocará la respuesta del receptor (elaboración de anticuerpos dirigidos en contra del alelo distinto y no presente en el receptor).

La cantidad de sangre inyectada es de 2 ml. en cada oportunidad.

Al cabo de tres inyecciones se procede a sangrar el receptor y se titula el antisuero obtenido. Periódicamente es necesario inyectar los receptores para mantener el título del inmuersero y es necesario también sangrar para obtener suero inmune utilizable.

El suero obtenido se inactiva a 56° C por 30' con el objeto de destruir el complemento, se ampolletan (adicionados de Merthiolate 1:::10.000) y guardan a -18°C.

Los sueros inmunes deben someterse a absorciones con el objeto de eliminar anticuerpos inespecíficos y responsables de reacciones cruzadas. Para hacer absorciones se utilizan glóbulos rojos apropiados. La cantidad de eritrocitos a utilizar depende del título del suero. Es necesario hacer ensayos tentativos. Se debe hacer el menor número posible de absorciones ya que éstas hacen bajar el título del mismo.

Los anticuerpos aglutinantes son evidenciados mediante reacciones de hemoaglutinación en placa o en tubo.

La primera consiste en agregar una gota de antisuero a una gota de sangre citratada y lavada previamente 3 veces en solución salina (0.9%).

La lectura se hace después de imprimir un ligero movimiento rotatorio a la placa; puede ser macroscópica o microscópica en caso de dudas.

La técnica de hemoaglutinación en tubo (que fue la que definitivamente empleamos por ser más confiable). Consiste en agregar con una pipeta pasteur graduada 0.090 ml de suero a 0.090 ml de sangre en las condiciones mencionadas, a un tubo de 5 cm x 0.5 cm

de diámetro. La reacción se acelera centrifugando a 1000 r.p.m. x 3'. Las lecturas macroscópicas se hacen la primera luego de transcurrido 1 hora y la segunda al día siguiente (24 hrs.) previa agitación vigorosa de los tubos.

Las reacciones permanecen por la noche a temperatura ambiente $\pm 18^{\circ}\text{C}$).

Todos los procedimientos arriba señalados se hacen conservando la esterilidad (se hizo control periódico de la esterilidad de los sueros y sangre en el laboratorio de Bacteriología del Instituto Médico-Biológico) y con un control riguroso del lavado del material de vidrio.

Las gallinas utilizadas son de raza pesada (Broilers) Plymouth Rock procedentes del Criadero Coliumo. Se mantienen en jaulas numeradas.

Las lecturas se clasifican de acuerdo a su intensidad en 1, 2 o 3 cruces.

RESULTADOS Y DISCUSION

Siguiendo la técnica ya señalada obtuvimos los títulos que se indican en el Cuadro N^o 3. Algunas receptoras reaccionan escasamente como las N^o 36 y 38. Esto puede deberse a numerosas causas, entre otras similitud antigénica. No sería nuestro caso ya que ellas presentan un genotipo adecuado para obtener A₄ y B₆. La literatura cita (Hála K. 1972) que actúan mejor como estímulos antigénicos los alelos del sistema A y B, sin embargo de observar el Cuadro N^o 3 se aprecia una buena respuesta inmunitaria frente a los antígenos del sistema E.

Finalmente en este mismo cuadro se ve en la fila inferior la existencia de un suero inmune transitoriamente descrito por nosotros como anti C. De acuerdo con el genotipo de ambos animales no deberíamos haber obtenido respuesta inmunitaria ya que la gallina tiene para los sistemas A, E y B todos los antígenos presentes en la dadora.

Este fenómeno podría deberse entre otros a la existencia de un antígeno distinto a los mencionados, presente en la dadora y ausente en la receptora.

Para confirmar lo anterior será necesario realizar cruzamientos dirigidos con el objeto de ver si hay ligamiento o asociación independiente con los sistemas anteriores: una prueba de esta naturaleza nos probaría claramente la existencia de un nuevo factor.

La existencia de "factores propios" en cada raza (como técnica de diagnóstico del genotipo) es un hecho conocido, no tenemos información de éste en la raza Plymouth Rock pero sí en otras (Bow J. et al 1972).

Si hubiéramos obtenido efectivamente un reactivo mono-específico anti A_1 por ejemplo, todas aquellas gallinas que presentaran el alelo A_1 (ver Cuadro N° 4, gallinas números 27, 22, etc.) (Este Cuadro es panorámico para los 3 loci, la presente comunicación se relaciona solamente con el locus A) deberían dar una reacción de aglutinación positiva y una reacción de hemoaglutinación negativa aquellas que no lo presentaran (las N° 15, 25 etc.).

Cuando hicimos esta comprobación (Cuadro N° 4) pudimos apreciar que esta coincidencia no se producía. Al observar el comportamiento del reactivo anti A_1 vemos que las gallinas números 27, 22, 38, 2, 41, 19 etc. dan hemoaglutinación negativa a pesar de estar tipificadas como A_1 (homo o heterocigotas).

Este hecho nos estaría indicando que las gallinas mencionadas carecen de ese antígeno o que el anticuerpo obtenido no identifica ese alelo.

Una falta de coincidencia como la mencionada es frecuente de obtener cuando se emplean reactivos elaborados en una determinada raza que luego se utilizan para probar los antígenos de otra distinta.

Esto se explica debido a que los antígenos son complejos en su estructura, es decir, presentan especificidades múltiples que comparten o no con otros. Algo semejante ocurre con el sistema Rh de la especie humana en que Rh está constituido por 3 especificidades antigénicas distintas (C, D y E) responsables de la complejidad de este sistema. Otro ejemplo lo constituye el locus B del bovino o el locus H_2 del ratón (Hoecker et al 1965).

Para obtener un reactivo mono-específico es necesario entonces eliminar aquellas especificidades compartidas con antígenos del mismo locus o con los de loci distintos y dejar solamente aquellas que sirven para identificar el antígeno que interesa. El método a utilizar es el de absorción del inmunduero mediante glóbulos rojos lavados.

En el Cuadro N° 5 probamos los reactivos anti A_2 , A_3 , A_4 y A_5 frente a 11 gallinas representativas para las diversas combinaciones genotípicas de los alelos del locus A. Al observar este cuadro se concluye nuevamente que no existe concordancia entre el diagnóstico genotípico realizado previamente y los sueros isoimunes obtenidos por nosotros. La gallina N° 38 por ejemplo reacciona con los 4 anti-sueros que se prueban a pesar de que su genotipo es A_4A_5 y debería reaccionar solamente con los sueros anti A_4 y Anti A_5 .

Todo lo anterior nos está indicando que es necesario absorber los inmundueros obtenidos. En el Cuadro N° 6 y 7 señalamos los resultados obtenidos de absorber el suero anti A_2 (gallina receptora N° 39) con los g. r. que se indican. Se trata de una absorción simultánea es decir, una batería de sueros isoimunes se enfrenta simultáneamente y cada uno a una muestra distinta de glóbulos rojos: en nuestro caso los números 11, 26, 27, 38 y 40.

Esta absorción simultánea permite evaluar en cierta medida el número de especificidades antigénicas presentes en las diversas muestras de eritrocitos. Un ordenamiento de los resultados en esta absorción simultánea revela que el mayor número de especificidades corresponde a los glóbulos rojos de las gallinas N° 38 y 40 y la menor a las gallinas 11 y 26.

Al absorber con g. r. de la gallina N° 11 eliminamos del inmuersuo aquellos anticuerpos que lo aglutinan; al mismo tiempo el suero queda negativo para los glóbulos rojos N° 26, 36 y 28 que comparten por lo tanto la misma especificidad. Podemos considerar entonces que 11, 26, 36 y 28 tienen frente a este inmuersuo una estructura antigénica semejante, esto se comprueba con los resultados obtenidos de absorber con glóbulos rojos de la gallina N° 26.

El resto de las muestras de glóbulos rojos continúa dando aglutinación positiva lo que indica que el inmuersuo contiene otras aglutininas (distintas a las anteriores), que los identifican.

Al absorber con glóbulos rojos N° 27 eliminamos todas las especificidades compartidas por los glóbulos rojos de las gallinas N° 4 y 12, luego éstos tienen otro antígeno además del anterior; tendrían por tanto dos especificidades antigénicas.

Finalmente cuando se absorbió con eritrocitos números 38 o 40, ellos eliminaron todos los anticuerpos para las 11 muestras de glóbulos rojos que se probaban. Estos últimos por lo tanto deben tener a lo menos tres especificidades antigénicas.

Todo esto es posible comprobarlo mediante absorción sucesiva; es decir el mismo suero va siendo absorbido sucesivamente por los glóbulos rojos elegidos.

Para esto utilizamos en la primera absorción (ver Cuadro N° 7) glóbulos rojos de gallinas N° 26 en un caso y N° 11 en otro. Se comprueba lo observado en el Cuadro N° 6 ya que se eliminan las especificidades compartidas por los glóbulos rojos N° 36-11-28.

Al absorber el mismo inmuersuo anterior pero ahora con glóbulos rojos N° 27 en un caso o N° 12 en otro, desaparecen las especificidades de los glóbulos rojos números 27, 4 y 12.

Finalmente al absorber por tercera vez el inmuersuo con glóbulos rojos de las gallinas N° 38 o 40, desaparecen las aglutininas contenidas en el suero y éste se hace negativo para los eritrocitos que se prueban.

Con el método seguido en los Cuadros N.os 6 y 7 es posible entonces distinguir 3 especificidades distintas en el inmuersuo N° 39 (anti A₂).

Supongamos que los glóbulos rojos N° 26-36-11 y 28 tienen una especificidad que designaremos arbitrariamente como: a.

Los glóbulos rojos 27-4-12 tienen lo anterior y otra nueva; la designaremos a-b.

Los glóbulos rojos 40-34-38 tienen las dos anteriores y una nueva; la designaremos a-b-c.

El inmunsuero completo contiene entonces anticuerpos que arbitrariamente designamos como anti A, anti B y anti C.

Si deseamos separar estas distintas especificidades con el objeto de obtener un suero monoespecífico será necesario absorber utilizando los glóbulos rojos mencionados. Mediante este procedimiento podemos separar solamente dos fracciones en el inmunsuero: una que contendrá anti C (absorción con glóbulos rojos ab) y otra que contendrá anti AB (absorción con g.r. c.). Podemos detectar de esta manera glóbulos rojos que pueden ser de 3 categorías: abc (inmunsuero completo), ab o c.

Para establecer si las especificidades mencionadas son producto de uno, dos o tres genes situados o no en un mismo cromosoma será necesario realizar cruzamientos dirigidos.

Un procedimiento semejante al indicado más arriba fue utilizado para los inmunsueros N^o 24 (Anti A₃) N^o 28 (anti A₅) procedimientos que se señalan en los Cuadros 8 y 9. No pudimos ampliar este trabajo al antisuero A₄ debido a la muerte del receptor. Lo estamos preparando nuevamente para lo cual utilizamos una pareja adecuada.

Finalmente se hace necesario probar todas las muestras de g.r. de las gallinas de nuestro Vivero con las distintas fracciones de los inmunsueros elaborados lo que nos permitirá comparar nuestra tipificación con la realizada previamente.

Estos experimentos serán objeto de una nueva publicación.

La presente comunicación es parte del Proyecto de Investigación denominado Genética de Aves domésticas (Código N^o 2.08.24) financiado por el Consejo de Investigación Científica de la Universidad de Concepción.

AGRADECIMIENTOS

A la Srta. Margarita Troncoso por su valiosa cooperación técnica.

CUADRO N° 1

CLASIFICACION GENOTIPICA DE LAS GALLINAS DEL VIVERO

GENOTIPOS			
Gallina N°	Locus A	Locus E	Locus B
2.	A ₄ A ₄	E ₁	B ₂
3.	A ₄ A ₄	E ₁	B ₄
4.	A ₄ A ₅ or A ₅ A ₅	E ₁ E ₃	B ₄
7.	A ₄ A ₅ or A ₅ A ₃	E ₁ E ₅	
11.	A ₂ A ₅	E ₁ E ₅	
12.	A ₄ A ₅ or A ₅ A ₅	E ₁	B ₄
13.	A ₃ A ₅	E ₅	B ₄
14.	A ₄ A ₅	E ₁ E ₃	
15.	A ₂ A ₅	E ₁ E ₅	
15.	A ₄ A ₅	E ₁ E ₅	
19.	A ₄ A ₄	E ₁	B ₆
20.	A ₄ A ₅	E ₃ E ₅	B ₆
22.	A ₃ A ₄	E ₃	
24.	A ₄ A ₅	E ₁	B ₉
25.	A ₃ A ₅	E ₃ E ₅	B ₉
26.	A ₂ A ₂	E ₁ E ₅	
27.	A ₂ A ₄	E ₁ E ₅	B ₉
28.	A ₄ A ₄	E ₁	
29.	A ₂ A ₂	E ₁ E ₅	
30.	A ₄ A ₄	E ₅	
31.	A ₂ A ₄	E ₁	B ₉ /B ⁺ / ₂₁
32.	A ₄ A ₅	E ₃ E ₅	B ₉ /B ⁺ / ₂₁
33.	A ₄ A ₄	E ₁ E ₅	B ⁺ / ₂₁
34.	A ₄ A ₄	E ₁	B ⁺ / ₂₁
35.	A ₄ A ₄	E ₃ E ₅	
36.	A ₂ A ₃	E ₃ E ₅	B ₄
37.	A ₃ A ₅	E ₁	B ₉
38.	A ₄ A ₅	E ₁	
39.	A ₄ A ₄	E ₁ E ₅	B ₉
40.	A ₄ A ₅	E ₁ E ₅	B ₄
41.	A ₄ A ₅	E ₃ E ₅	B ₄ B ₅
42.	A ₃ A ₅	E ₁	B ₂ /B ₄
43.	A ₄ A ₅	E ₃ E ₅	B ₂

CUADRO N° 2
PLAN DE INMUNIZACIONES
LOCI: A, E, B

DADORAS		RECEPTORAS			LOCUS A		LOCUS B		LOCUS E			
Gallina N°	Genotipo	Gallina N°	Genotipo	Genotipo	FACTOR ANTIGENICO	REACTIVO	Gallina N°	Genotipo	Genotipo	FACTOR ANTIGENICO	REACTIVO	
27	A ₂ A ₄	B ₁ B ₉	A ₄ A ₄	E ₁ E ₅	B ₁ B ₉	Anti A ₂	39	A ₄ A ₄	E ₁ E ₅	B ₁ B ₉	A ₂	Anti A ₂
37	A ₃ A ₅	B ₁ B ₉	A ₄ A ₅	E ₁ E ₁	B ₁ B ₉	Anti A ₃	24	A ₄ A ₅	E ₁ E ₁	B ₁ B ₉	A ₃	Anti A ₃
22	A ₃ A ₄	B ₁ B ₁	A ₂ A ₃	E ₃ E ₃	B ₁ B ₁	Anti A ₄	36	A ₂ A ₃	E ₃ E ₅	B ₁ B ₁	A ₄	Anti A ₄
38	A ₄ A ₅	B ₁ B ₁	A ₁ A ₄	E ₃ E ₃	B ₁ B ₁	Anti A ₅	28	A ₁ A ₄	E ₁ E ₁	B ₁ B ₁	A ₅	Anti A ₅
LOCUS B												
7	A ₄ A ₅ ⁽³⁾	B ₁ B ₁	A ₃ A ₅	E ₁ E ₅	B ₄ B ₂	Anti B ₁	42	A ₃ A ₅	E ₁ E ₁	B ₄ B ₂	B ₁	Anti B ₁
2	A ₄ A ₄	B ₁ B ₂	A ₄ A ₄	E ₁ E ₁	B ₁ B ₄	Anti B ₂	3	A ₄ A ₄	E ₁ E ₁	B ₁ B ₄	B ₂	Anti B ₂
4	A ₄ A ₄ ⁽⁵⁾	B ₄ B ₄	A ₄ A ₅	E ₁ E ₃	B ₁ B ₁	Anti B ₄	14	A ₄ A ₅	E ₁ E ₃	B ₁ B ₁	B ₄	Anti B ₄
41	A ₄ A ₅	B ₄ B ₅	A ₁ A ₅	E ₃ E ₅	B ₁ B ₆	Anti B ₄	20	A ₁ A ₅	E ₃ E ₅	B ₁ B ₆	B ₅	Anti B ₄
19	A ₄ A ₄	B ₁ B ₃	A ₄ A ₅	E ₁ E ₁	B ₁ B ₁	Anti B ₅	38	A ₄ A ₅	E ₁ E ₁	B ₁ B ₁	B ₆	Anti B ₅
37	A ₃ A ₅	B ₁ B ₉	A ₃ A ₅	E ₁ E ₁	B ₁ B ₄	Anti B ₆	13	A ₃ A ₅	E ₁ E ₅	B ₁ B ₄	B ₉	Anti B ₆
LOCUS E												
37	A ₃ A ₅	B ₁ B ₉	A ₄ A ₅	E ₁ E ₁	B ₉ B _{±21}	Anti E ₁	32	A ₄ A ₅	E ₃ E ₅	B ₉ B _{±21}	E ₁	Anti E ₁
4	A ₄ A ₄ ⁽⁵⁾	B ₁ B ₄	A ₄ A ₅	E ₁ E ₃	B ₁ B ₁	Anti E ₃	16	A ₄ A ₅	E ₁ E ₅	B ₁ B ₁	E ₃	Anti E ₃
40	A ₄ A ₅	B ₁ B ₄	A ₄ A ₄ ⁽⁵⁾	E ₁ E ₅	B ₁ B ₄	Anti E ₅	12	A ₄ A ₄ ⁽⁵⁾	E ₁ E ₁	B ₁ B ₄	E ₅	Anti E ₅
30	A ₄ A ₄	B ₁ B ₁	A ₄ A ₅	E ₅ E ₅	B ₁ B ₂	Anti C	43	A ₄ A ₅	E ₃ E ₅	B ₁ B ₂	C	Anti C

CUADRO Nº 3

NUMERO DE INYECCIONES Y TITULO DE INMUNSUEROS
OBTENIDOS

Gallina receptora Nº	Nº de Inyección	Título	Reactivo
39	8	1/64	Anti A ₂
24	6	1/32	Anti A ₃
36	9	1/4	Anti A ₄
28	7	1/32	Anti A ₅
42	9	1/16	Anti B ₁
3	8	1/8	Anti B ₂
14	8	1/8	Anti B ₄
20	8	1/8	Anti B ₅
38	9	N	Anti B ₆
13	9	1/64	Anti B ₉
32	9	1/256	Anti E ₁
16	9	1/32	Anti E ₃
12	9	1/16	Anti E ₅
19	9	1/8	Anti E ₃ E ₅
43	7	1/8	Anti C

CUADRO N° 4

REACCIONES DE AGLUTINACION ENTRE LOS ANTI-SUEROS ELABORADOS (REACTIVOS) Y LOS ERITROCITOS QUE SE INDICAN

G.R. N°	GENOTIPOS	Reactivos Anti:														
		A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	B ₁	B ₂	B ₄	B ₅	B ₉	C	E ₁	E ₃	E ₅	E ₃₊₅	
27	A ₂ A ₄ E ₁ E ₅	3	2	±	1	±	—	2	1	2	2	—	2	2	2	2
37	A ₃ A ₅ E ₁	2	2	—	2	—	±	2	1	1	2	—	2	2	2	2
22	A ₃ A ₄ E ₃	1	3	—	2	—	—	2	2	—	3	—	2	—	3	3
38	A ₄ A ₅ E ₁	2	1	—	2	—	1	1	1	1	±	—	2	2	2	2
7	A ₄ A ₅ E ₁ E ₅	2	—	±	1	2	1	—	1	1	±	—	1	2	2	2
4	A ₄ A ₅ E ₁ E ₃	2	2	1	2	—	1	2	1	1	2	—	2	2	2	2
40	A ₄ A ₅ E ₁ E ₅	2	2	2	2	2	1	—	2	2	—	—	2	2	2	2
2	A ₄ A ₄ E ₁	—	1	—	—	—	—	1	—	—	2	—	2	±	1	1
41	A ₄ A ₅ E ₃ E ₅	1	2	—	1	—	1	1	1	1	2	—	2	2	—	—
19	A ₄ A ₄ E ₁	1	1	—	—	±	1	1	1	1	2	—	2	±	—	—
30	A ₄ A ₄ E ₅	1	1	—	—	±	1	1	1	1	2	—	2	2	1	1
35	A ₄ A ₄ E ₃ E ₅	1	—	±	1	±	1	—	1	1	1	—	2	2	1	1
15	A ₂ A ₅ E ₁ E ₅	1	2	1	1	1	1	1	1	2	1	—	±	2	2	2
25	A ₃ A ₅ E ₃ E ₅	—	2	—	1	—	—	1	1	1	1	—	1	1	3	2
26	A ₂ A ₂ E ₁ E ₅	—	2	—	—	1	—	2	1	1	2	—	—	2	2	1
19	A ₄ A ₄ E ₁	—	2	2	1	1	—	2	1	3	1	—	1	2	3	2
33	A ₄ A ₄ E ₁ E ₅	—	2	1	1	1	1	2	1	—	2	—	1	2	2	—
34	A ₄ A ₄ E ₁	—	2	1	1	—	4	2	1	—	3	—	1	2	3	1

CUADRO N° 5

RESPUESTA DE LOS DIVERSOS ANTISUEROS ELABORADOS
(SIN ABSORCION) FRENTE A DIVERSAS COMBINACIONES
GENOTIPICAS

Genotipo	Gallina	SUEROS ANTI.			
	Nº	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅
A ₂ A ₄	22	2	1	—	1
A ₂ A ₂	26	2	2	—	—
A ₂ A ₃	36	1	1	—	±
A ₂ A ₄	27	3	1	1	1
A ₂ A ₅	11	1	1	—	1
A ₄ A ₄	34	3	1	—	—
A ₄ A ₄	28	1	1	—	—
A ₄ A ₅	40	3	1	—	—
A ₄ A ₅	4	2	±	±	1
A ₄ A ₅	38	2	1	1	1
A ₄ A ₅	12	2	2	—	1

CUADRO N° 6

ABSORCION SIMULTANEA. INMUNSUERO A₂ ABSORBIDO CON LOS
ERITROCITOS QUE SE INDICAN

Eritrocitos de Gallinas Nos.	Anti A ₂ sin absorber	Absorción con g. r. de gallinas Nos.				
		11	26	27	38	40
40	3	1	1	1	—	—
34	2	1	1	1	—	—
38	3	1	1	1	—	—
27	2	1	1	—	—	—
4	1	1	1	—	—	—
12	1	1	1	—	—	—
26	2	—	—	—	—	—
36	1	—	—	—	—	—
11	1	—	—	—	—	—
38	1	—	—	—	—	—

CUADRO N° 7

ABSORCION SUCESIVA. INMUNSUERO A₂ ABSORBIDO CON LOS ERITROCITOS QUE SE INDICAN

Eritrocitos de Gallinas N°	Anti A ₂ sin absorber	Absorción con g. r. de gallinas cuyos Nos. se indican		
		1ª Absorción g. r. 26 u 11	2ª Absorción g. r. 27 o 12	3ª Absorción g. r. 38 o 40
40	3	2	1	—
34	2	1	1	—
38	3	2	1	—
27	2	1	—	—
4	1	1	—	—
12	1	1	—	—
26	2	—	—	—
36	1	—	—	—
11	1	—	—	—
28	1	—	—	—

CUADRO N° 8

ABSORCION SIMULTANEA DEL SUERO

A₃

Eritrocitos de Gallinas N°	Suero Anti A ₃ Sin absorc.	Absorción con g. r. de gallinas N°									
		4	12	27	34	38	40	36	11	28	26
26	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	—
28	2	1	1	1	1	1	1	—	—	—	—
11	3	1	1	1	1	1	1	—	—	—	—
36	2	1	1	1	1	1	1	—	—	—	—
40	2	1	1	1	—	—	—	+	+	+	±
38	1	1	1	1	—	—	±	+	±	+	—
34	1	1	1	—	—	—	±	+	+	+	—
27	1	1	1	—	—	—	—	+	+	+	—
12	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

CUADRO N° 9

ABSORCION SIMULTANEA DEL SUERO ANTI A₅

Eritrocitos de gallinas N°	Suero Anti A ₅ sin Absorc.	Absorción con g. r. de gallinas N°									
		6	8	9	12	13	25	29	38	43	14
6	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
43	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

BIBLIOGRAFIA

- Briles W.E., Mc Gibbon W.R., Irwin M.R. 1950. On multiple alleles effecting cellular antigens in the chicken Genetics. 35:633-652.
- Briles, W.E., Mc. Gibbon W.R., Irwin M.R. 1971. The use of isohemoagglutinating reagents to assure continued purity of parent lines. World's Poult. Sc. 27-2:120-130.
- Briles W.E., Mc. Gibbon W.R., Irwin M.R. 1970. Susceptibility to an avian Leukosis Sarcoma virus: close association with an erythrocyte isoantigen. Science 169:1324-1325.
- Bouw J., Oosterlee C.C. 1972. Specificities of reagents for bloodtyping of animals. XIIth Europ. Conf. Anim. Blood. Grps Biochem. Polym. Bp. Ed. The Netherlands: 425-428.
- Gilmour P.G. 1969. Blood groups research in chickens. Agr. Sc. Review 7-4:13-22.
- Hála K. 1972. Strenght of erythrocyte antigens in chicken established by means of antibody production. XIIth. Europ. Conf. Anim. Blood. Grps. Biochem. Polym, Bp. Ed. The Netherlands: 425-428.
- Hoecker G., Pizarro O. 1965. International Symposium on tissue transplantation: The histocompatibility antigens. Ed. Universitaria S.A.: 54-71.
- Irwin M.R. 1974. Coments on early history of immunogenetics. Anim. Blood. Grps. biochem Genet 5:65-84.
- Kabat E.A. 1956. Blood group substances. Acad.. Press Inc. Pub. N. York: 25-33.
- Somes R. 1973. Linkage relationship in domestic fowl. Journ. Hered, 64:217-221.