

TABLA 33 Subtipificación de las poblaciones virales obtenidas de la cepa A Sabana/74-7510 del pasaje 5 de cultivo celular BHK por bloqueo con los sueros de los subtipos A24 y A Sabana/74

DI <sup>1</sup> CT 50%	Sueros y Dilución	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
10 <sup>2</sup>	A24-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>3</sup>	A24-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>4</sup>	A24-1/20	12	70	37	22	22	25	100
10 <sup>5</sup>	A24-1/20	18	68	34	20	24	20	100
10 <sup>2</sup>	A24-1/100	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>3</sup>	A24-1/100	15	71	30	18	16	23	100
10 <sup>4</sup>	A24-1/100	20	74	26	15	18	20	100
10 <sup>5</sup>	A24-1/100	14	68	22	10	11	27	100
10 <sup>2</sup>	ASab-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>3</sup>	ASab-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>4</sup>	ASab-1/20	12	75	36	10	9	13	100
10 <sup>5</sup>	ASab-1/20	12	73	29	12	12	12	100
10 <sup>2</sup>	ASab-1/100	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>3</sup>	ASab-1/100	5	85	46	4	4	4	100
10 <sup>4</sup>	ASab-1/100	8	73	38	6	5	5	100
10 <sup>5</sup>	ASab-1/100	5	70	32	8	6	10	100

<sup>1</sup> Dosis Infectantes Cultivo de Tejido 50%

TABLA 34 Subtipificación de las poblaciones virales obtenidas de la cepa A27-8046 del pasaje 5 de cultivo celular BHK por bloqueo con los sueros de los subtipos A27, A24 y ASabana/74

DI <sup>1</sup> CT 50%	Sueros y Dilución	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
10 <sup>3</sup>	A27-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>4</sup>	A27-1/20	26	78	24	100	39	11	61
10 <sup>5</sup>	A27-1/20	30	89	28	100	48	16	69
10 <sup>3</sup>	A27-1/100	37	87	25	100	49	14	76
10 <sup>4</sup>	A27-1/100	29	70	21	100	38	16	67
10 <sup>5</sup>	A27-1/100	27	72	23	100	35	10	66
10 <sup>2</sup>	A24-1/20	32	83	30	100	27	17	56
10 <sup>3</sup>	A24-1/20	28	79	23	100	31	13	50
10 <sup>4</sup>	A24-1/20	24	76	20	100	35	14	57
10 <sup>2</sup>	A24-1/100	15	75	9	100	21	15	51
10 <sup>3</sup>	A24-1/100	21	80	15	100	28	13	48
10 <sup>4</sup>	A24-1/100	12	75	12	100	25	9	48
10 <sup>2</sup>	ASab-1/20	15	76	17	100	20	14	51
10 <sup>3</sup>	ASab-1/20	17	85	16	100	29	17	50
10 <sup>4</sup>	ASab-1/20	19	87	23	100	32	19	44
10 <sup>2</sup>	ASab-1/100	28	84	28	100	28	16	55
10 <sup>3</sup>	ASab-1/100	25	83	25	100	35	19	46
10 <sup>5</sup>	ASab-1/100	20	68	19	100	38	11	58

<sup>1</sup> Dosis Infectantes Cultivo de Tejido 50%

luciones 1/20 y 1/100. Solamente el suero inmune A27 a la dilución 1/20 produjo neutralización de  $10^3$  DI. Las características antigénicas de las poblaciones virales obtenidas indican invariabilidad en relación al virus original.

La cepa A8381 fué enfrentada en diferentes dosis a los sueros inmunes de los subtipos A27 y A24 en diluciones 1/20 y 1/100. Los dos sueros a la dilución 1/20 y el suero A24 a la dilución 1/100 neutralizaron  $10^3$  DI. Las poblaciones virales aisladas en los demás enfrentamientos poseen características similares al virus original (Tabla 35).

Con la cepa A8480 solamente el suero A24 a la dilución 1/20 neutralizó  $10^3$  DI. Las características antigénicas de las poblaciones aisladas mostraron similitud con las observadas en las subtipificaciones del material original (Tabla 36).

#### 4.4.3. Virus Murinizado.

Para obtener resultados satisfactorios en las pruebas de subtipificación con los antígenos de ratón fué necesario realizar extracciones sucesivas con el mismo volumen

TABLA 35 Subtipificación de las poblaciones virales obtenidas de la cepa A8381 del pasaje 5 de cultivo celular BHK por bloqueo con los sueros de los subtipos A27 y A24

DI <sup>1</sup> CT 50%	Sueros y Dilución	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
10 <sup>2</sup>	A27-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>3</sup>	A27-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>4</sup>	A27-1/20	17	100	15	80	17	12	98
10 <sup>5</sup>	A27-1/20	24	100	26	88	29	24	98
10 <sup>2</sup>	A27-1/100	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>3</sup>	A27-1/100	29	100	26	40	28	37	99
10 <sup>4</sup>	A27-1/100	38	100	27	36	24	29	100
10 <sup>5</sup>	A27-1/100	24	100	35	41	16	26	97
10 <sup>2</sup>	A24-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>3</sup>	A24-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>4</sup>	A24-1/20	31	100	16	72	19	28	96
10 <sup>5</sup>	A24-1/20	19	100	15	73	29	35	100
10 <sup>2</sup>	A24-1/100	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>3</sup>	A24-1/100	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>4</sup>	A24-1/100	25	100	80	69	20	28	100
10 <sup>5</sup>	A24-1/100	21	100	23	71	23	33	98

<sup>1</sup> Dosis Infectantes Cultivo de Tejido 50%

TABLA 36 Subtipificación de las poblaciones virales obtenidas de la cepa A8480 del pasaje 5 de cultivo celular BHK por bloqueo con los sueros de los subtipos A27, A24 y ASabana/74

DI <sup>1</sup> CT 50%	Sueros y Dilución	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
10 <sup>3</sup>	A27-1/20	39	<del>100</del>	35	28	25	75	91
10 <sup>4</sup>	A27-1/20	31	<del>100</del>	50	32	20	80	98
10 <sup>5</sup>	A27-1/20	40	<del>100</del>	42	30	22	74	90
10 <sup>3</sup>	A27-1/100	44	<del>100</del>	47	29	20	70	92
10 <sup>4</sup>	A27-1/100	36	<del>100</del>	38	21	19	69	94
10 <sup>5</sup>	A27-1/100	32	<del>100</del>	45	26	23	74	98
10 <sup>3</sup>	A24-1/20	-	-	-	-	-	-	-
10 <sup>4</sup>	A24-1/20	33	<del>100</del>	29	20	22	64	88
10 <sup>5</sup>	A24-1/20	30	<del>100</del>	35	24	20	59	89
10 <sup>3</sup>	A24-1/100	37	<del>100</del>	30	22	19	55	94
10 <sup>4</sup>	A24-1/100	42	<del>100</del>	40	31	23	65	90
10 <sup>5</sup>	A24-1/100	37	<del>100</del>	32	36	20	71	94
10 <sup>3</sup>	ASab-1/20	29	<del>100</del>	24	18	15	58	74
10 <sup>4</sup>	ASab-1/20	34	<del>100</del>	27	21	19	64	92
10 <sup>5</sup>	ASab-1/20	39	<del>100</del>	34	27	23	72	99
10 <sup>3</sup>	ASab-1/100	41	<del>100</del>	38	30	22	68	<del>100</del>
10 <sup>4</sup>	ASab-1/100	40	<del>100</del>	32	28	23	70	94
10 <sup>5</sup>	ASab-1/100	32	<del>100</del>	29	20	17	68	92

1

Dosis Infectantes Cultivo de Tejido, 50%

inicial de 5 ml de medio, hasta la utilización de más de 16 carcasas por pasaje con cada uno de los virus.

Se observó que las seis cepas (Tablas 37 a 42) presentan persistencia de los caracteres antigénicos originales con alta especificidad frente al suero del subtipo que los identifica.

#### 4.5 ANALISIS ESTADISTICO

El ANAVA en un diseño de bloques completo al azar constituido con los valores de subtipificación de los antígenos de epitelio lingual de las seis cepas, no fué significativo a un nivel del 99%. Para los tratamientos (cepas) fué altamente significativo a un nivel del 95% (Tabla 43 del anexo).

El estudio de regresión lineal múltiple computarizado con los porcentajes de fijación del complemento obtenidos por la prueba de subtipificación, indicaron la tendencia de cada una de las variables independientes a los respectivos sueros hiperinmunes de los subtipos considerados, correspondiendo como referencia el suero homólogo al virus (Tablas 44 a 49 del Anexo).

TABLA 37 Valores en porcentaje de fijación del complemento de las pruebas de subtipificación aplicadas a la cepa A24-6000 adaptada a ratones lactantes

Material Viral	Pasaje ratón lactante	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
Epitelio lingual	1	13	100	76	31	8	34	88
	2	5	100	60	25	7	30	75
	3	21	100	66	26	26	41	60
Pasaje BHK-1	1	16	100	63	10	13	31	69
	2	18	100	65	15	13	33	60
	3	14	100	55	16	13	26	61
Pasaje BHK-5	1	17	100	56	19	11	38	79
	2	17	100	61	13	6	46	81
	3	17	100	66	14	12	47	69
Pasaje BHK-10	1	29	100	58	17	15	40	73
	2	17	100	46	14	6	35	60
	3	9	100	61	11	14	39	71

TABLA 38 Valores en porcentaje de fijación del complemento de las pruebas de subtipificación aplicadas a la cepa A27-6304 adaptada a ratones lactantes

Material Viral	Pasaje ratón lactante	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
Epitelio Lingual	1	91	60	26	100	32	16	29
	2	94	52	29	100	44	29	28
	3	86	48	21	100	35	18	20
Pasaje BHK-1	1	93	55	29	100	38	29	28
	2	90	49	28	100	44	25	17
	3	90	47	28	100	44	25	17
Pasaje BHK-5	1	83	45	18	100	33	17	18
	2	90	60	29	100	37	29	23
	3	82	52	29	100	41	29	22
Pasaje BHK-10	1	83	40	21	100	25	10	22
	2	87	43	21	100	30	13	22
	3	90	50	23	100	34	25	17

TABLA 39 Valores en porcentaje de fijación del complemento de las pruebas de subtipificación aplicadas a la cepa ASabana/74-7510 adaptada a ratones lactantes

Material Viral	Pasaje ratón lactante	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
Epitelio Lingual	1	12	88	55	14	22	17	100
	2	15	73	47	15	25	15	100
	3	19	78	49	17	26	19	100
Pasaje BHK-1	1	17	81	49	15	23	19	100
	2	7	85	51	11	27	15	100
	3	12	85	50	14	24	17	100
Pasaje BHK-5	1	17	80	32	13	21	15	100
	2	17	77	30	8	24	14	100
	3	19	75	25	17	19	12	100
Pasaje BHK-10	1	13	75	44	10	17	13	100
	2	12	79	47	15	26	20	100
	3	14	79	40	8	19	11	100

TABLA 40 Valores en porcentaje de fijación del complemento de las pruebas de subtipificación aplicadas a la cepa A27-8046 adaptada a ratones lactantes

Material Viral	Pasaje ratón lactante	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
Epitelio Lingual	1	76	66	26	100	58	25	35
	2	84	71	27	100	49	22	49
	3	87	71	27	100	42	24	57
Pasaje BHK-1	1	69	56	29	100	41	19	37
	2	76	61	29	100	46	19	44
	3	83	68	28	100	45	27	68
Pasaje BHK-5	1	87	61	23	100	46	11	61
	2	90	68	21	100	42	24	57
	3	91	72	14	100	48	17	60
Pasaje BHK-10	1	79	61	18	100	42	15	56
	2	76	50	19	100	37	11	63
	3	85	60	17	100	38	11	61

TABLA 41 Valores en porcentaje de fijación del complemento de las pruebas de subtipificación aplicadas a la cepa A8381 adaptada a ratones lactantes

Material Viral	Pasaje ratón lactante	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
Epitelio Lingual	1	63	100	26	99	31	32	99
	2	50	100	20	82	26	17	95
	3	59	100	20	62	30	20	95
Pasaje BHK-1	1	47	100	25	79	28	19	99
	2	36	100	26	51	26	28	95
	3	59	100	24	85	29	23	95
Pasaje BHK-5	1	31	100	18	47	20	18	93
	2	44	100	23	70	29	23	99
	3	42	100	17	52	19	16	93
Pasaje BHK-10	1	31	100	18	47	20	18	93
	2	50	100	23	54	24	36	97
	3	59	100	25	75	28	20	100

TABLA 42 Valores en porcentaje de fijación del complemento de las pruebas de subtipificación aplicadas a la cepa A3480 adaptada a ratones lactantes

Material Viral	Pasaje ratón lactante	Porcentaje de F. del C.						
		Antisueros						
		A18	A24	A26	A27	A31	A32	ASab
Epitelio Lingual	1	34	100	24	26	36	85	100
	2	55	100	66	31	32	76	97
	3	44	100	47	48	36	82	97
Pasaje BHK-1	1	38	100	37	29	32	59	97
	2	31	100	37	34	34	76	94
	3	44	100	50	29	31	81	95
Pasaje BHK-5	1	38	100	38	38	26	62	78
	2	58	100	49	44	41	69	91
	3	36	100	27	36	26	62	78
Pasaje BHK-10	1	32	100	52	29	22	68	82
	2	44	100	42	31	34	78	91
	3	29	100	33	29	24	70	94

Las cepas A6304, A7510 y A8381 mostraron tendencia significativa frente al suero del subtipo A32 e igualmente la cepa A8480 frente a los sueros de los subtipos A18, A31 y A Sabana/74. No mostraron la misma tendencia las cepas A8046 y A6000 (Figuras 23 a 34 del Anexo).