

福氏痢疾杆菌 Y 变种的抗原变异

何晓青 邱明庆 赖东耀*

(中国医学科学院江西分院细菌免疫研究室;
江西医学院微生物教研组细菌免疫研究室,南昌)

Boyd 的工作不仅由于对福氏痢疾杆菌型抗原和羧抗原的发现而奠定了本菌血清学分类的基础,同时也最早地叙述了福氏痢疾杆菌型抗原消失变异现象^[1]。这一现象其后由 Weil^[2], Veazie^[3] 及 Ewing^[4] 等相继证实。此后, Ewing 发现了福氏痢疾杆菌的另一抗原变异现象,称为羧抗原的形体变异^[4]。日本学者岡部建藏将福氏痢疾杆菌 1—4 型用血清诱导的方法,成功地重复了型抗原消失变异,分别获得了 Y 变种,又由这些 Y 变种进一步用羧 3, 4 因子血清诱导,获得了不含羧 3, 4 抗原的菌株,并将此种菌株称为“C 相”菌^[5]。

我们曾在菌型鉴定工作中获得不与各型及羧因子血清凝集而仅在福氏多价血清中凝集的福氏痢疾杆菌 2 株^[6]。此类菌株是否由抗原变异所产生则尚不明了。

为了对福氏痢疾杆菌抗原变异的规律性作进一步的考查,特按照岡部氏血清诱导法首先对 Y 变种的抗原变异进行研究。在实验过程中,并结合上述地方菌株作了对比观察。现将结果报告如下。

材料与 方法

菌种 供抗原变异研究的福氏痢疾杆菌 Y 变种共有 4 株: 51309 (捷克); 51409 (波兰), 原始来源为法国巴斯德研究院; 51349 (苏联), 系苏联分类法 A 型标准菌株; 以上 3 株均系由卫生部生物制品检定所获得, 经用成都生物制品研究所出品的痢疾分型因子血清鉴定, 不被福氏 I—VI 型因子血清凝集, 其羧抗原为 3, 4, 用上海生物制品研究所出品福氏羧 3, 4 因子血清 (批号 61-1-1) 进行复查, 亦均能凝集。南 59-132, 系本省分离, 1959 年鉴定时^[6] 可被羧 3 因子血清凝集, 但不被羧 4 因子血清凝集, 经冻干保存, 于 1962 年开启, 用上述血清进行复查, 在羧 3 及羧 4 因子血清中均可凝集。

供对比观察的福氏痢疾杆菌未定型菌株¹⁾, 菌号为附-15, 系本省分离, 1959 年鉴定时^[6] 不被福氏各型及羧因子血清凝集, 而仅在福氏多价血清中凝集, 经冻干保存, 于 1962 年开启, 复查结果不被上海羧 3, 4 血清凝集。

供诱导株血清中抗体成分分析用的福氏痢疾杆菌各型标准菌株, 均系由卫生部生物制品检定所获得。除 5 型(51207)原始来源为英国外, 其余各型均来自捷克。其中 4a 型(51305)不含羧抗原 3, 其余各株经鉴定均与 Madsen 氏抗原式^[7]符合。

血清 诱导试验用的福氏痢疾杆菌羧 3, 4 因子血清, 系上海生物制品研究所出品, 批号为 61-1-1, 效价 1:1280++, 原稀释 5 倍。这一血清的特异性, 经用福氏痢疾杆菌各型标准菌株检查, 可与 1a、1b、

* 本文承程知义教授审阅, 特此致谢。

本文为中国微生物学会 1963 年学术年会转稿。

1) 另一菌株“南 59-117”在 1962 年开启时已死亡, 故未用。

2a、6 各型及 Y 变种凝集;与其他各型及 X 变种经观察 30 分钟仍无凝集现象发生。用地方菌株进行检查,可与 1a、1b、2a、3b (吉 58-62), 4a (新 61-32, 南 59-3) 及 6 型的代表菌株凝集,其他各型 (包括 5 型“吉 59-29”株在内)均不能凝集。

培养基 诱导试验用的培养基为磷酸盐胰液肉汤(TPB)^[5],其成分为胰液 20 克; Na_2HPO_4 2.5 克; NaCl 5 克;葡萄糖 2 克;水 1000 毫升; pH 7.2。

分离菌落及制备菌液用磷酸盐胰液琼脂 (TPA),系在 TPB 中加入琼脂 2% 即成。

血清诱导试验^[5] 在 TPB 管内按比例加入羣 3,4 血清,血清含量为 1:16—1:256。菌种先在不含血清的 TPB 管中培养 1 代,取菌 1 铂环种入含血清的 TPB 管中,经 37℃ 孵育 22—24 小时,用力震摇,在室温中放置 1 小时,然后移种至另一 TPB 管中为第 2 代,同时接种 TPA 平板分离培养。TPA 平板经孵育 18—24 小时后,无选择挑取 20 个菌落作玻片凝集试验,检查其对羣 3,4 血清的凝集情况。以后每日移种 1 代,每代均经 TPA 平板分离培养,检查 20 个菌落。如此共移种至 6—10 代。此外并在 TPB 管内加入 10% 正常家兔血清作为对照,移种 10 代,将第 10 代的培养物用 TPA 平板分离培养,检查 20 个菌落。

诱导变异株抗原分析方法 将各个诱导变异株与福氏分型因子血清作玻片凝集试验。又将 Y 变种原始代表菌株 51309 及其诱导变异株和自地方分离的菌株“附-15”分别免疫家兔制成血清。以原株和诱导株的血清作交互吸收试验,比较其在诱导后抗原性状的改变。以及以诱导株与地方株的血清作交互吸收试验,以比较其抗原的异同。再以原株及诱导株的血清,分别用福氏菌各型标准菌株测定其凝集价以作比较。在此基础上,通过进一步的分析,以确定诱导株抗原的主要性质。

诱导株与原株生化特性的比较 对 Y 变种每一原始菌株及其诱导株进行检查。检查的项目有形态、菌落、动力、靛基质、M. R.、V. P.、硝酸盐还原等试验,以及对于葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖、卫矛醇、山梨醇、鼠李糖、肌醇、木胶糖、阿拉伯胶糖、水杨甙和侧金盏花醇等糖类的发酵试验,糖类发酵试验共观察 14 日。

试 验 结 果

(一) Y 变种各菌株的诱导变异

以菌株 51309 进行诱导试验,当加入的羣 3,4 因子血清含量为 1:16 及 1:32 时培养液内细菌不能生长,1:64 以上均生长良好。1:64 之管初代培养细菌生长后在培养液中呈强度凝集“++++”,1:128 之管呈弱凝集“++”,1:256 之管不凝集“—”。用后三个浓度进行诱导试验。其中 1:128 和 1:256 两个浓度,经连续培养 10 代,在平板上分离菌落,用羣 3,4 血清检查,各检查 20 个菌落均未发生变异。1:64 的经培养至第 3 代,20 个菌落中有 1 个凝集减弱,至第 4 代有 3 个菌落完全不凝集,第 5 代增至 11 个菌落,至第 6 代,20 个菌落全部变为不凝集,如表 I。

变异完全以后,继续在相同的含血清 1:64 的 TPB 管中传种 4 代(第 7 代—第 10 代)。在第 7 代及第 10 代各分离数个菌落保存菌种,其中以第 7 代第 6 号菌落(C-76)及第 10 代第 1 号菌落(C-101)作为诱导变异代表株,以供检查。诱导株经用半固体保存 1 年以上,其抗原性状仍保持稳定不变。

正常家兔血清对照试验无变异发生。重复试验仍获得相同之变异。

菌株 51409, 51349 及南 59-132 用含血清 1:64 的 TPB 管进行诱导试验,均获得了与菌株 51309 相同的变异。

表 1 菌株 51309 经羣 3,4 血清诱导后的变异(血清浓度 1:64)

代 数	在福氏羣 3,4 血清中凝集情况及菌落数		
	+++	+	-
1	20	0	0
2	20	0	0
3	19	1	0
4	13	4	3
5	5	4	11
6	0	0	20

(二) 诱导变异株的抗原性状

1. 诱导后抗原性状的改变 诱导变异的菌株经用福氏分型因子血清进行检查,均不与型 I—VI 及羣 6, 羣 7,8 血清凝集。

以 C-76、51309 和附-15 3 个菌株的免疫血清,分别进行交互吸收试验,可以看出诱导株 C-76 在抗原性状上的改变。以 C-76 与 51309 的血清交互吸收,51309 可吸尽 C-76 血清中的全部抗体成分,说明 C-76 株不含有新的抗原成分;而 51309 的血清经 C-76 吸收后仍可与 51309 凝集至 1:2560(表 2)。这一剩余抗体成分主要是羣 3,4(表 5)。以 C-76 与附-15 的血清交互吸收,互可吸尽血清中的抗体成分,说明这两个菌株的抗原成分完全相同(表 3)。

表 2 51309 与 C-76 的交互吸收试验

凝集试验菌株	51309 血 清		C-76 血 清	
	未 吸 收	以 C-76 吸收	未 吸 收	以 51309 吸收
51309	20480	2560	10240	—
C-76	20480	—	20480	—

表 3 C-76 与附-15 的交互吸收试验

凝集试验菌株	C-76 血 清		附-15 血 清	
	未 吸 收	以附-15 吸收	未 吸 收	以 C-76 吸收
C-76	20480	—	10240	—
附-15	20480	—	10240	—

诱导株 C-76 与原株 51309 在抗原性状上的差别,还可以从未吸收血清与福氏菌各型标准菌株试管凝集试验的结果中看出(表 4)。表中 C-76 血清对 2a 型(51302)和 6 型(51307)的凝集价比 51309 血清对这两个菌型的凝集价显著降低,这是由于诱导株 C-76 羣 3,4 抗原的消失所致。但 4a 型(51305)的凝集价改变不显著,这是由于该菌株是不含有羣 3 抗原的。1a 型(51301)和 1b 型(51310)的凝集价改变也不显著,系由于被大量的 1a、1b 和 Y 变种之间的其他共同抗原所掩盖,可从进一步分析后的结果得知。

表中还列出了诱导株 C-101 血清与福氏菌各型标准菌株的凝集价。与 C-76 血清相比,它们基本上是一致的。

表 4 未吸收血清的凝集试验

菌 液	51309 血 清	C-76 血 清	C-101 血 清
1a(51301)	20480	20480	20480
1b(51310)	10240	5120	10240
2a(51302)	10240	1280	2560
2b(51311)	2560	2560	5120
3 (51303)	10240	5120	10240
4a(51305)	10240	5120	5120
4b(51312)	5120	2560	1280
5 (51207)	5120	2560	1280
6 (51307)	1280	320	160
X(51308)	10240	10240	10240
51309	20480	10240	10240
C-76	20480	20480	20480
C-101	20480	20480	20480

2. 诱导株抗原成分的进一步分析 为了进一步了解诱导株 C-76 的抗原组成,用 C-76 和 51309 血清进行了一系列的吸收试验 (表 5)。

表 5 菌株 C-76 的抗原分析

凝 集 试 验 菌 株	C-76 血 清			51309 血 清		
	用 51308 吸 收	用 51308 51301 吸 收	用 51308 51302 吸 收	用 C-76 51303 吸 收	用 C-76 51303 51301 51302 吸 收	用 C-76 51303 51301 51302 吸 收
1a(51301) I:4	160	—	—	1280	—	—
1b(51310) I:4,6	160	—	—	1280	—	—
2a(51302) II:3,4	80	40	—	1280	320	—
2b(51311) II:7	—	—	—	—	—	—
3 (51303) III:6,7	—	—	—	—	—	—
4a(51305) IV:-	—	—	—	—	—	—
4b(51312) IV:6	—	—	—	—	—	—
5 (51207) V:7	—	—	—	—	—	—
6 (51307) VI:4	—	—	—	640	—	—
X(51308) -:7	—	—	—	—	—	—
51309(-:3,4,X ₁)	320	320	160	1280	320	—
C-76(-:X ₁)	640	640	640	—	—	—
剩 余 抗 体 成 分	X ₁ ...	X ₁ ...	X ₂	3,4	3	—

C-76 血清以 51308 吸收后,血清中的剩余抗体成分似具有羣 3,4 的性质,但对 51307 不凝集。以 51308 和 51301 吸收后,剩下对 51302 呈微弱凝集的似为羣 3 因子,但对 51309 和 C-76 的凝集价仍未下降。用 51308 和 51302 进行吸收,结果吸除了与 1a、1b、2a 的交叉凝集素,证明该成分确系微量的羣 3,4 抗体外,并显示 C-76 血清中含有一种对诱导株 C-76 及原株 51309 有凝集作用的特殊的抗体成分,为叙述方便起见,暂称为 X₁,这一成分与羣 3,4 因子显然不同。

诱导株 C-76 对原株 51309 血清中抗体成分的吸收能力可在表 5 的右列看出。51309 血清以 C-76 和 51303 吸收, 对血清中羣 3, 4 抗体成分无影响, 因为 51305 株是不含羣 3 抗原的, 故进一步用 C-76、51303 和 51301 进行吸收, 证明对羣 3 抗体成分确无影响, 而以 C-76、51303、51301 和 51302 进行吸收时, 则 51309 血清中抗体成分被完全吸尽。

3. Y 变种及诱导株 X_1 抗原的性质 根据以上结果, 表明在 C-76 血清中含有对 C-76 和 51309 有凝集作用的一种特殊抗体成分, 暂称为 X_1 。进一步用 51309 和 51349 血清进行吸收, 也同样获得了 X_1 因子血清 (表 6)。这 3 种因子血清对 Y 变种各株均具有一致的凝集作用, 但凝集价则高低不一, 51309 的另一诱导株 C-101 及菌株 51409、51349、南 59-132 的诱导株作玻片凝集试验, 均具有凝集作用。由此可知, Y 变种各菌株及其诱导株, 均含有这种 X_1 抗原。

表 6 Y 变种各株的 X_1 抗原

凝 集 试 验 菌 株	C-76 血 清			51309 血 清			51349 血 清		
	用 51308	51301	51302	用 51308	51303	51301	用 51308	51303	51301
	吸收			51302 吸收			51302	51305	吸收
福氏菌各型标准菌株及 X 变种	—			—			—		
51309(-:3, 4, X_1)	160			640			640		
51409(-:3, 4, X_1)	640			640			320		
51349(-:3, 4, X_1)	640			1280			1280		
南 59-132(-:3, 4, X_1)	640			640			640		
附-15(-: X_1)	640			640			320		
C-76(-: X_1)	640			640			320		

为了解 X_1 抗原在福氏菌各个菌型中的分布, 取地方分离的福氏菌各型菌种 13 株 (每个菌型 1—2 株), 用 C-76 (以 51308、51301、51302 吸收) 制备的因子血清作玻片凝集试验, 发现有 3b 型 (吉 58-62)、4a 型 (新 61-32, 南 59-3) 及 5 型 (吉 59-29) 等 4 株, 可在这一因子血清中凝集。故知 X_1 抗原系一种羣抗原。

通过试管凝集效价测定及吸收试验 (表 7)。显示羣抗原 X_1 在不同菌型或不同菌株中并不完全相同。

表 7 羣 X_1 因子血清对地方菌株的凝集试验及吸收试验

血 清		C-76 血清以 51308 51301 51302 吸收			
受 检 菌 株		3b (吉 58-62)	4a (新 61-32)	4a (南 59-3)	5 (吉 59-29)
原 始 凝 集 价	对受检菌株	160	320	160	320
	对 C-76	640	640	640	640
以受检菌株进行 吸收后凝集价	对受检菌株	—	—	—	—
	对 C-76	160	160	—	160

进一步用 C-76 制备的羣 X_1 因子血清, 对 51309 及 C-76 两株进行诱导试验。当血清浓度为 1:80 时, 细菌不能生长。血清浓度为 1:160 时, 51309 株经过 2 代, 即获得了

不与这一血清凝集的变异菌株, C-76 株经 10 代仍未发生变异。51309 株在变异后, 其羣 3, 4 抗原未受到影响。

(三) 诱导株与原株生化特性的比较

Y 变种各株及诱导株以及自临床分离的附-15 株经检查均能分解葡萄糖、甘露醇, 迟缓分解阿拉伯胶糖, 分解糖类时产酸无气, 不分解乳糖、麦芽糖、蔗糖、卫矛醇、山梨醇、鼠李糖、肌醇、木胶糖、水杨甙及侧金盏花醇。M.R. 阳性, V.P. 阴性, 硝酸盐还原试验阳性。其中 51309, 51409 以及这两个菌株的诱导株可形成靛基质, 其余各株则否。各菌株在诱导以后其形态、菌落和动力均无变化。

讨 论

岡部氏利用血清诱导的方法, 发现福氏菌抗原变异现象可分为两个阶段, 第一个阶段是各型福氏菌变为 Y 变种, 第二个阶段是 Y 变种进一步变异为“C 相”菌^[5]。Gorea 与 Meitert 发现某些福氏菌 2a 型的自发性变异也分为两个阶段, 首先是型 II 抗原的消失, 然后是羣 3, 4 抗原的消失^[8]。我们将 4 株 Y 变种, 经羣 3, 4 血清诱导后, 发生羣 3, 4 抗原消失变异, 应与岡部氏所见“C 相”菌相同。又经交互吸收试验, 证明由 Y 变种诱导获得的菌株 C-76 与临床分离的菌株附-15 抗原成分是相同的。因此, 可以认为附-15 类型菌株的形成, 虽是自发性变异, 但自发性变异与诱导变异可能是经过大致相同的过程, 即是受到抗体影响的结果。经我们鉴定过的另一菌株南 59-117^[6], 通过交互吸收试验证明与附-15 株相同。由此可见, 这一变异过程在一定条件下具有必然性。

早在 1918 年, Murray 就已将 Y 免疫血清经 1a(V), 2a(W), 3(Z) 及 X 菌株吸收, 获得了 Y 特异血清用于诊断^[9]。而在苏联分类法^[10], 按 Тарасова 比较的结果, 苏联 a 型与国际分类法 Y 变种是相当的^[11]。又按 Пехлецкая 等的研究报告^[12], 苏联 a 型与 Y 变种抗原构造极为近似, 又略有区别; 但如交互吸收, 则血清中凝集价极低, 无使用价值, 故认为不应当把它们分开。实际上, 苏联各研究所所制备的 a 型血清亦均可与 Y 变种凝集。故本实验所制备的羣 X₁ 因子血清与 Murray 的 Y 特异血清和苏联 a 型血清基本上属于同一成分。根据岡部氏的资料, C 抗原在 B 相(Y 变种)时为潜伏性因子, 当 Y 抗原(羣 2, 3, 4)消失变为 C 相时成为显著抗原^[5]。Gorea 与 Meitert 观察福氏菌 2a 型在自发变异时, 型 II 抗原消失, 同时培养物出现一种新的羣抗原, 称其为羣抗原 10^[8]。本实验的结果, 诱导株所具有的羣抗原 X₁, 同时也是 Y 变种原株所具有的抗原成分之一。究竟此羣 X₁ 抗原与岡部氏所称 C 抗原以及 Gorea 和 Meitert 所称羣抗原 10 是否为同一成分, 尚有待证实。

据本实验所见, 羣 X₁ 抗原不但为 Y 变种各株及诱导株所有, 同时也在某些福氏菌型(3b、4a、5)的地方菌株中发现。根据近年来的资料^[13-16], 某些属于苏联 a 型的菌株, 经鉴定为国际分类法 4a 及 4b 型, 可以想见可能是由于这些菌株具有羣 X₁ 抗原的结果。这种情况, 也和 Meitert 与 Gorea 氏所见羣 10 抗原可于某些福氏菌 5 型及其他菌型中发现^[17]的情况相同。

由于在 Y 变种中发现了羣抗原 X₁, 我们认为羣 3, 4 因子血清的制备方法有重新加以限制的必要。只宜用福氏菌 2a 型免疫制备, 而不宜采用 Y 变种, 因后者混有羣 X₁ 因

子抗体,因而造成菌型鉴定的混乱。此外,按照本文方法制备的羣 X₁ 因子血清,用于 Y 变种及其变异株以及某些其他有关菌型的诊断是有一定价值的。

实验证明,利用羣 X₁ 因子血清对 Y 变种进行诱导,可以发生羣 X₁ 抗原的消失变异,变异后其羣 3, 4 抗原不受影响。但对已消失了羣 3, 4 抗原的菌株进行诱导时,菌株表现稳定,不能发生变异。

总 结

本文报告利用岡部氏血清诱导的方法,使 4 株 Y 变种(包括苏联 a 型 1 株)发生羣 3, 4 抗原消失变异。并证明诱导变异株与临床分离的菌株附-15 相同。自诱导株和 Y 变种原菌株中发现一未知的羣抗原成分,暂称为 X₁, 此抗原成分亦见于某些福氏菌型(3b、4a、5)的地方菌株。文中结合文献,讨论了这一抗原成分的性质。由于在 Y 变种中发现了羣抗原 X₁, 故作者等认为羣 3, 4 因子血清的制备方法有重新加以限制的必要。同时认为将按本文方法制备的羣 X₁ 因子血清用于诊断是具有一定价值的。通过进一步的实验,证明利用羣 X₁ 因子血清对 Y 变种进行诱导,可发生羣抗原 X₁ 的消失变异。

参 考 文 献

- [1] Boyd, J. S. K.: *J. Hyg.* 38:477, 1938.
- [2] Weil, A. J., Farsetta, K. and Knaub, V.: *J. Immunol.*, 52:211, 1946.
- [3] Vcazie, L.: *J. Immunol.*, 61:307, 1949.
- [4] Ewing, W. H.: *J. Immunol.*, 72:404, 1954.
- [5] Okabe, K.: *J. Immunol.*, 81:285, 1958.
- [6] 何晓青等:微生物学报, 8:41, 1960.
- [7] Madsen, S.: *On the Classification of the Shigella Types*, Munksgaards, Copenhagen, 1949.
- [8] Gorca, A. and Meitert, T.: *Arch. Roumaines Path. Expér. Microbiol.*, 20:301, 1961.
- [9] Murray, E. G. D.: *R. A. M. C. J.*, 31:257, 1918.
- [10] Троицкий, Л. В.: *Ж.М.Э.И.*, (4):42, 1953.
- [11] 引自 Либов, А. Л.: *Бактериальная Дизентерия у Детей*, 1956.
- [12] Пехлецкая, В. Я. и Альтгаузен, В. П.: *Вопросы Эпидемиологии Профилактики и Клиники Кишечных Инфекций*, 61—73, Медгиз, Москва, 1954.
- [13] Olinici, N., Lescinski, S. and Busila, S.: *Microbiol. Parasitol. Epidemiol.*, (5):453, 1958.
- [14] Novgorodskaja, E. M.: *Intern. Bull. Bact. Nomen. Tax.*, 10:239, 1960.
- [15] Ewing, W. H. and Trabulsi, L. R.: *Intern. Bull. Bact. Nomen. Tax.*, 12:1, 1962.
- [16] Равич-Биргер, Е. Д. и др.: *Ж.М.Э.И.*, (6):7, 1962.
- [17] Meitert, T. and Gorca, A.: *Arch. Roumaines Path. Expér. Microbiol.*, 20:213, 1961.

ANTIGENIC VARIATION IN *SHIGELLA FLEXNERI* VARIANT Y

HO SHIAO-CHING, CHIU MIN-CHING AND LAI TUNG-YAO

(Department of Bacteriology and Immunology, Chinese Academy of Medical Sciences, Kiangsi; Department of Microbiology, Kiangsi Medical College, Nanchang)

Using Okabe's method of serum induction, a loss variation involving the group antigens 3 and 4 has been observed in four strains of *S. flexneri* variant Y, including a strain designated as belonging to type a, according to the Soviet nomenclature. By cross agglutinin absorption, it has been demonstrated that the induced variants show an identical antigenic structure with clinically isolated strain F1-15.

A group antigen component, as yet unidentified and tentatively named x_1 , has been found in the induced variant and in the original strain of the variant Y. This component is also present in certain local strains of the *S. flexneri* type 3b, 4a and 5. It is believed that the group factor x_1 serum prepared with either the induced strain or with Y strains contains an agglutinin component, which is probably also present in the Y-specific serum of Murray (1918), and in the type a serum according to the Soviet classification (1953). The x_1 serum is useful for the identification of Y strains and variants as well as strains of some other related types.

In consequence of the demonstration of the group antigen x_1 in variant Y, the authors suggest that group factor serum 3, 4 should only be prepared by immunization with *S. flexneri* 2a. Variant Y should not be used because of the presence of the group factor x_1 which may give rise to confusion in serotyping.

It was further shown that a loss variation involving the group antigen x_1 may also occur in the Y variant by induction with group factor x_1 serum. In such an induced variation, the group-antigens 3 and 4 appeared to be unaffected. A strain devoid of group-antigens 3 and 4 was found to be stable towards induction with group factor x_1 antiserum.