

血清 10 型鸭疫里默氏菌 4 个亚型的分析

张大丙

(中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

摘要: 采用琼脂扩散沉淀试验, 对只与血清 10 型鸭疫里默氏菌参考菌株 H2199 的抗血清发生凝集反应的 58 株分离株进行了抗原性分析。根据沉淀反应模式, 可将这些分离株分成 4 类: 第 1 类是以 C2 为代表的 30 株; 第 2 类是以 C449 为代表的 3 株; 第 3 类是以 C459 为代表的 6 株; 第 4 类是以 C598 为代表的 19 株。第 1 类分离株与 H2199 具有相同的热稳定抗原模式, 其他类型的分离株与各类代表菌株的热稳定抗原具有同一性, 但彼此之间以及与 H2199 之间存在明显的抗原差异。用未经吸收和经过吸收的抗血清经玻片凝集试验和试管凝集试验对 H2199 和 4 类分离株彼此之间的抗原关系进行了进一步的分析。以 C2 为代表的分离株属于真正的 10 型; 以 C459 为代表的分离株与 H2199 存在显著的抗原差异, 它们除了与 H2199 拥有共同抗原外, 还有自己的特异性抗原成分, 因此, H2199 与 C459 之间的抗原关系可描述为 $ab\bar{r}bc$ 。类似的抗原关系还分别存在于 H2199 与 C598、C598 与 C449 之间。但是, 在试管凝集试验中, 分别相对于 C449、C459 和 C459 而言, 菌株 H2199、C598 和 C449 缺乏自己的特异性抗原成分, 因此, H2199-C449、C449-C459、C598-C459 之间的抗原关系可分别描述为 $b\bar{r}bc$ 。基于上述结果, 可将只与 10 型抗血清发生凝集反应的分离株分成 4 个亚型, 分别以菌株 H2199(或 C2)、C449、C459、C598 作为亚型 1~4 的代表菌株。

关键词: 鸭疫里默氏菌; 血清型; 亚型

中图分类号: S852.61

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2005)02-0181-06

鸭疫里默氏菌(*Riemerella anatipestifer*, RA) 是鸭传染性浆膜炎的致病病原, 基于凝集试验和沉淀试验, 该菌被区分为 21 个血清型^[1-3], 其中的 20 型参考菌株 670/89 因为不属于鸭疫里默氏菌而被排除^[4], 代之以另一个菌株(698/95)作为 20 型的参考菌株^[5]。程安春等认为我国还存在几个新的血清型, 分别命名为 22~25 型^[6]。目前对鸭疫里默氏菌的血清型命名已达成了共识, 但由于对菌种鉴定的不准确、使用不同的分型方法以及菌株之间相近的血清型相关性等原因, 在血清型鉴定过程中仍然存在较混乱的局面^[1-4]。

鸭疫里默氏菌的血清 10 型是我国某些地区主要流行的血清型之一^[7,8], 不同的 10 型分离株与 10 型参考菌株存在不同程度的交叉反应, 尤其根据沉淀试验的结果, 某些菌株还易被鉴定为新的血清型。因此, 笔者从只与 10 型抗血清发生凝集反应的分离株中选择了 58 株, 采用常规的分型方法对它们进行了抗原性分析。

1 材料和方法

1.1 参考菌株

1~19 型 RA 参考菌株由美国的 Sandhu 先生馈赠, 菌株号见文献[1~3], 10 型 RA 的参考菌株号是 H2199。

1.2 分离株

选取 58 个 10 型分离株用于本研究, 这些菌株是 1996—2000 年间从不同鸭场具有明显浆膜炎病理变化的病死鸭分离获得, 玻片凝集试验将它们鉴定为 10 型, 这些菌株与除 10 型外的其他 18 个血清型的抗血清无可见的凝集反应和沉淀反应。

1.3 抗血清

兔抗 1~19 型 RA 参考菌株的血清为作者制备, 选择分离株 C2、C598、C449 和 C459 制备了抗血清, 方法见文献[1]。这 4 个菌株的抗血清与除 10 型外的其他 18 个血清型的抗原无可见的凝集反应和沉淀反应。

1.4 血清型鉴定方法

用玻片凝集试验、试管凝集试验、琼脂扩散沉淀试验进行血清型的鉴定, 方法及抗原制备见文献[8]。玻片凝集试验中, 按照凝集出现的快慢以及凝集块大小将阳性结果记录为++++、+++、++、+、-; 试管凝集试验采用 1:10 作为起始稀释度;

收稿日期: 2003-12-19

作者简介: 张大丙(1965-), 男, 湖北天门市人, 副教授, 硕士, 从事预防兽医学教学与科研工作

琼扩抗原为热稳定抗原^[8]。

1.5 吸收试验

为研究菌株之间的抗原关系,对相应的抗血清进行交互吸收,方法见文献[9]。

2 结果

2.1 与 H2199 抗血清的反应

图 1 是 H2199 血清(中心孔 10)与菌株 H2199 (外围孔 10)、C2、C21、C455 和 C598 的热稳定抗原的沉淀反应模式。

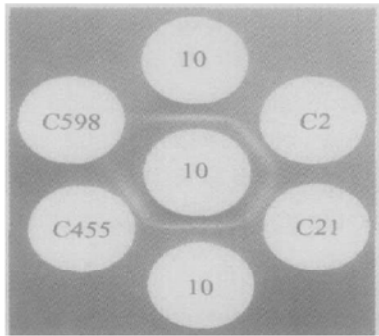


图 1 H2199 血清(中心孔 10)与菌株 H2199(外围孔 10)、C2、C21、C455 和 C598 的热稳定抗原的沉淀反应模式
 Fig. 1 Precipitation pattern of antiserum to H2199 (10 in center well) and heat stable antigens extracted from strains H2199(10 in peripheral well), C2, C21, C455 and C598

在与 H2199 血清的反应中,菌株 H2199、C2、C21 和 C455 的抗原均形成清晰的沉淀线,并且这些沉淀线彼此完全融合,但 C598 抗原不形成可见的沉淀线;用 C459 抗原也检测不到可见的沉淀反应;若在外围孔加入 C449 抗原,可见到两条极其微弱的沉淀线。根据沉淀试验结果,可将 58 株分离株分为 3 类:第 1 类以 C2、C21 和 C455 为代表,共有 30 株,与 H2199 具有相同的热稳定抗原模式,对 C2 和 H2199 进行交叉凝集试验和交叉沉淀试验可进一步证实二者的抗原同一性(表 1)。第 2 类包括 C449、C250、C921 3 个菌株,沉淀反应模式同 C449;第 3 类是以 C598 和 C459 为代表的 25 株,均无可见沉淀反应。

用未经吸收和经过吸收的 H2199 抗血清进行凝集试验,结果也表明 C449 与 H2199 部分相关,而菌株 C598 和 C459 与菌株 H2199 差异显著。如表 1 和表 2 所示,在玻片凝集试验中,未经吸收的 H2199 血清与 H2199、C2、C598、C459 和 C449 都发

生强凝集反应,但试管凝集效价高低不同,与 H2199 的效价相比,C2 的效价与之相同,C449 的效价低 2 个滴度,C598 和 C459 的效价均低 3 个滴度。菌株 H2199 和 C2 都可吸收掉 H2199 血清中的所有凝集抗体;C449 也几乎吸收掉 H2199 血清中的所有凝集抗体,吸收后的 H2199 血清仅在玻片凝集试验中发生较弱的同源凝集反应;C598 的吸收对 H2199 血清与 H2199 和 C449 的凝集反应则几乎没有影响,但消除了该血清与 C598 的所有凝集反应,并使该血清仅在玻片凝集试验中与 C459 发生弱凝集;经 C459 吸收后的 H2199 血清与 C459 不再发生凝集反应,仅在玻片凝集试验中与 C598 发生弱凝集,但与 H2199 和 C449 的凝集反应只略受影响。

表 1 菌株 H2199 和 C2 在 3 种分型试验中的抗原关系
 Table 1 Antigenic relationship between H2199 and C2 in three serotyping methods

抗原 Antigen	抗血清(吸收用菌) Antiserum(Absorbed with)	
	H 2199	H 2199 (C2)
H 2199	++++ (160)+	++++ (320)+
C2	++++ (160)+	++++ (160)+

符号和数据指玻片凝集试验、试管凝集试验和沉淀试验的结果
 Symbol and figures indicate the results of slide agglutination test, tube agglutination test and AGP test

2.2 与 C598 抗血清的反应

图 2 是 C598 血清(中心孔)与菌株 H2199 (10)、C598(外围孔)、C449、C459 和 C618 的热稳定抗原的沉淀反应模式。

C598 血清与菌株 H2199、C598、C459 和 C618 的抗原都形成清晰的沉淀线,其中 C598 抗原和 C618 抗原所形成的沉淀线完全融合,而 H2199 抗原和 C459 抗原所形成的沉淀线分别与 C598 抗原所形成的沉淀线部分融合出现叉角;C598 血清与 C449 抗原无可见的沉淀反应。与 C598 血清的沉淀反应结果表明,以 C2 为代表的 30 株第 1 类菌株仍属于一类,沉淀反应模式和 H2199 一样;第 2 类的 3 个菌株即 C449、C250 和 C921 仍属于一类,与 C598 血清均无可见的沉淀反应;但与 H2199 抗血清无可见沉淀反应的 25 株第 3 类菌株被进一步分成 2 类:一类是以 C459 为代表的 6 个菌株,反应模式同

C459, 其抗原与 C598 抗原具有部分同一性; 另一类是以 C618 为代表的 18 株, 反应模式同 C618, 与 C598 具有抗原同一性。

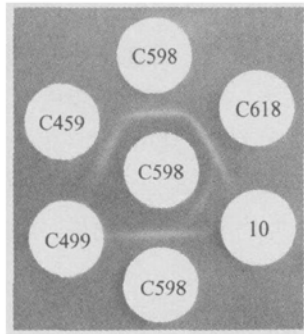


图 2 C598 血清(中心孔)与菌株 H2199(10)、C598(外围孔)、C449、C459 和 C618 的热稳定抗原的沉淀反应模式

Fig. 2 Precipitation pattern of antiserum to C598 (in center well) and heat stable antigens extracted from strains H2199 (10), C598 (in peripheral well), C449, C459 and C618

凝集试验与沉淀试验的结果相吻合。未经吸收的 C598 血清均能凝集 H2199、C598、C449、C459 以及 C618, 但凝集效价不同; 以 C598 为参照, 菌株 C618 比参照菌的凝集效价低 1 个滴度、H2199 和 C459 的效价比参照菌低 2 个滴度、C449 的效价比参照菌的效价低 3 个滴度。如表 2 所示, 血清吸收凝集试验进一步表明, 菌株 H2199 和 C449 与菌株 C598 差异显著, 而 C459 与 C598 存在较近的血清学相关性。C598 可吸收掉 C598 血清中的所有凝集抗体; C459 也几乎吸收掉 C598 血清中的所有凝集抗体, 仅在玻片凝集试验中 C598 血清还有较弱的同源凝集反应; 而经过菌株 H2199 或 C449 吸收后, C598 血清不再凝集 H2199 和 C449, 但凝集 C598 和 C459 的程度只是略有下降。

2.3 与 C449 抗血清的反应

图 3 是 C449 血清(中心孔)与菌株 H2199(10)、C598、C449(外围孔)、C250 和 C921 的热稳定抗原的沉淀反应模式。

在与 C449 血清的反应中, 菌株 H2199、C449、C250 和 C921 的抗原都形成清晰的沉淀线, 但菌株 C250 和 C921 的抗原所形成的沉淀线与 C449 抗原所形成的沉淀线均彼此完全融合, 而 H2199 抗原所形成的沉淀线与 C449 抗原所形成的沉淀线只是部

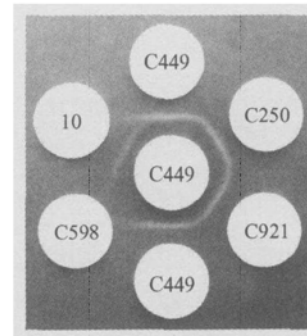


图 3 C449 血清(中心孔)与菌株 H2199(10)、C598、C449(外围孔)、C250 和 C921 的热稳定抗原的沉淀反应模式

Fig. 3 Precipitation pattern of antiserum to C449 (in center well) and heat stable antigens extracted from strains H2199 (10), C598, C449 (in peripheral well), C250 and C921

分融合; C598 抗原与 C449 血清则不形成可见的沉淀线; 用 C459 抗原检测, 可观察到 3 条极微弱的沉淀线。与 C449 血清的沉淀反应结果进一步证实, 以 C2 为代表的 30 株细菌属于一类, 其沉淀反应与 H2199 相同; 菌株 C449、C250 和 C921 属于一类, 其热稳定抗原具有同一性; 以 C459 为代表的 6 个菌株属于一类, 沉淀反应模式同 C459; 而以 C618 和 C598 为代表的 19 株属于一类, 与 C449 血清均不发生可见的沉淀反应。

未经吸收的 C449 血清与 H2199、C449 和 C459 都形成 1:40 的效价(表 2), 因此, 凝集试验不能显示 H2199、C459 与菌株 C449 的抗原差异, 只能显示出 C598 与 C449 存在显著差异, 因为即使在玻片凝集试验中, C449 血清也只能较弱地凝集 C598。但通过吸收试验可看出 H2199 与 C449 存在抗原差异, 而 C459 与 C449 存在较近的血清学关系, 并进一步证实 C598 与 C449 差异显著。如表 2 所示, 经菌株 C449 吸收后, C449 血清不与所有菌株发生可见的凝集反应; C459 吸收后, C449 血清仅在玻片凝集试验中与 H2199 和 C449 发生微弱凝集; H2199 吸收后, C449 血清不与 H2199 和 C598 凝集, 但与 C449 和 C459 凝集效价下降一个滴度; 而 C598 的吸收对 C449 血清的凝集影响不大, 该血清与 H2199、C449、C459 的凝集效价仅下降一个滴度, 与 C598 的微弱凝集反应被消除。

2.4 与 C459 抗血清的反应

图 4 是 C459 血清(中心孔)与菌株 H2199(10)、C598、C449、C459(外围孔)和 C628 的热稳定

抗原的沉淀反应模式。

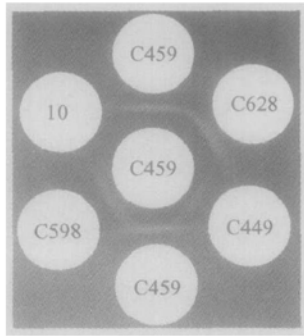


图4 C459血清(中心孔)与菌株H2199(10)、C598、C449、C459(外围孔)和C628的热稳定抗原的沉淀反应模式

Fig. 4 Precipitation pattern of antiserum to C459 (in center well) and heat stable antigens extracted from strains H2199 (10), C598, C449, C459 (in peripheral well) and C628

菌株 C598、C449、C459 和 C628 的抗原都与

C459 血清形成明显或清晰的沉淀线, 其中 C628 抗原和 C459 抗原所形成的沉淀线完全融合, 而 C598 抗原和 C449 抗原所形成的沉淀线只是分别与 C459 抗原所形成的沉淀线部分融合; H2199 抗原与 C459 血清则不发生可见的沉淀反应。根据与 C459 血清的反应结果, 待检的 58 株细菌也可被分类: 以 C2 为代表的 30 株为一类, 沉淀反应模式同 H2199; 菌株 C449、C250 和 C921, 以及以 C598 为代表的 19 株为一类, 沉淀反应模式分别与菌株 C449 和 C598 相同; 以 C628 为代表的 5 个菌株, 沉淀反应模式同 C628, 与 C459 一起组成一类。

凝集试验可验证琼扩试验的结果, 如表 2 所示, 未经吸收的 C459 血清凝集 H2199、C598、C449 和 C459 的效价有所不同; 血清吸收试验也说明菌株 H2199、C598、C449 与菌株 C459 存在抗原差异。C459 可吸收掉 C459 血清中的所有凝集素; C449 吸收后, C459 血清与 H2199 和 C449 不再发生凝集反应, 与 C598 仅在玻片凝集试验中发生微弱的凝集

表 2 菌株 H2199、C598、C449、C459 在凝集试验中的抗原关系

Table 2 Antigenic relationship between strains H2199, C598, C449 and C459 in agglutination tests

抗血清 Antiserum	吸收用菌 Absorbed with	抗原 Antigen			
		H2199	C598	C449	C459
H2199	-	++++ (160)	++++ (20)	++++ (40)	++++ (20)
	H2199	-	-	-	-
	C598	++++ (160)	-	++++ (20)	++ (0)
	C449	++ (0)	-	-	-
	C459	++++ (80)	++ (0)	++++ (20)	-
C598	-	++++ (40)	++++ (160)	++++ (20)	++++ (40)
	H2199	-	++++ (40)	-	++++ (40)
	C598	-	-	-	-
	C449	-	++++ (40)	-	++++ (20)
	C459	-	++ (0)	-	-
C449	-	++++ (40)	++ (0)	++++ (40)	++++ (40)
	H2199	-	-	++++ (20)	++++ (20)
	C598	++++ (20)	-	++++ (20)	++++ (20)
	C449	-	-	-	-
	C459	+(0)	-	+(0)	-
C459	-	++++ (20)	++++ (40)	++++ (80)	++++ (160)
	H2199	-	+(0)	++++ (40)	++++ (160)
	C598	-	-	++++ (40)	++++ (80)
	C449	-	+(0)	-	++++ (40)
	C459	-	-	-	-

反应,但与 C459 仍有清晰的凝集反应,不过凝集效价下降两个滴度;C598 的吸收消除了该血清与 H2199 和 C598 的凝集反应,与 C449 和 C459 的凝集效价均下降一个滴度;而 H2199 吸收后,C459 血清不再与 H2199 发生凝集,与 C598 仅在玻片凝集试验中发生微弱凝集,与 C449 的凝集效价下降一个滴度,与 C459 的凝集反应没有受到影响。

3 讨 论

3.1 血清 10 型分离株可被分成 4 个亚型

根据沉淀反应模式,只与 10 型鸭疫里默氏菌的抗血清发生凝集反应的 58 株鸭疫里默氏菌分离株被分成 4 类:第 1 类是以菌株 C2 为代表的 30 株;第 2 类是以 C449 为代表的 3 株;第 3 类是以 C459 为代表的 6 株;第 4 类是以 C598 为代表的 19 株。其中,以 C2 为代表的分离株与 H2199 具有抗原同一性,属于真正的 10 型;另外 3 类中的分离株分别与各自的代表菌株具有相同的热稳定抗原模式,但与 H2199 之间以及彼此之间存在明显的抗原差异。

使用未经吸收的抗血清,根据同源凝集效价和异源凝集效价的差异,也可将这些分离株进行大致分类。

血清吸收凝集试验表明,以 C459 为代表的一类菌株和 H2199 具有显著差异,它们除了与 H2199 拥有共同的抗原外,还有自己的特异性抗原成分;相对于 C459,H2199 也拥有自己的特异性抗原成分。但是,经过交互吸收后的 H2199 血清和 C459 血清还可与菌株 C449 和 C598 发生凝集反应,表明它们只具有相对的特异性。类似的抗原关系还分别存在于 H2199 与 C598、C598 与 C449 之间。因此,H2199-C459、H2199-C598、C449-C598 之间的抗原关系均可分别描述为 $ab\text{-}bc$ 。

在玻片凝集试验中,H2199-C449 之间也存在 $ab\text{-}bc$ 的抗原关系,但经过交互吸收后,H2199 血清中的特异性因子含量很低,不足以产生同源凝集效价,而 C449 血清中还含有足以形成同源凝集效价的特异性因子,因此,在试管凝集试验中,H2199-C449 之间的抗原关系可简化为 $b\text{-}bc$,也就是说,相对于 C449 而言,H2199 没有自己的特异性抗原。类似的抗原关系还分别存在于 C449-C459 和 C598-C459 之间,即相对于 C459 而言,C449 和 C598 都缺乏自己的特异性抗原。经过 H2199 吸收的 C449 血清,经过 C449 或 C598 吸收的 C459 血清也只具有相对的特异性。目前不能制备出具有较高效价的

H2199、C449 和 C598 的单因子血清,只能制备出 C459 的单因子血清。

鉴于这些菌株之间的抗原关系,将 C449、C459 和 C598 鉴定为 10 型的亚型更为合适,也就是说,只与 10 型抗血清发生凝集反应的 58 株鸭疫里默氏菌分离株属于 10 型的 4 个亚型,可分别以菌株 H2199(或 C2)、C449、C459 和 C598 作为亚型 1~4 的代表菌株。在本文即将完成之时,笔者用 1~19 型参考菌株和 10 型 4 个亚型菌株的抗血清对编号为 C915~C920 的 6 个菌株进行了凝集试验和沉淀试验,结果表明,这 6 个菌株可能属于第 5 个亚型,相应的抗血清正在制备中。

3.2 沉淀试验在血清型鉴定中存在不足

要分析本文中 4 类菌株之间的抗原关系,必须对抗血清进行吸收,但吸收对某些抗血清的抗体效价影响较大,且同时对凝集抗体和沉淀抗体产生影响,因此,吸收后的血清不适合用于沉淀试验。即使用未经吸收的抗血清进行沉淀试验,在 C449 抗原与 H2199 血清之间、C459 抗原与 C449 血清之间分别出现 2 条和 3 条极其微弱的沉淀线,不易观察。而 C459 与 1~19 型参考菌株之间均不形成可见的沉淀线,若不分析 C459 与 C598 和 C449 等菌株之间的抗原关系,极易将 C459 等菌株的血清型鉴定为不同于 1~19 型。若按照 Brogden 等的介绍^[10],使用更高浓度的热稳定抗原,还易将 C598、C449 以及 C915 等菌株都鉴定为不同于 1~19 型。结果表明,仅因为不同菌株之间没有交叉沉淀反应就将它们鉴定为不同的血清型可能是不准确的,进而说明沉淀试验可能不适合于提出新的血清型。

目前国际上已报道 RA 21 个血清型,其中 20 型和 21 型因为不与 1~19 型参考菌株之间发生可见的沉淀反应而被鉴定为 2 个新的血清型^[3,5],但根据本研究的结果,我们认为有必要用凝集试验重新检查 20 型和 21 型与 1~19 型的抗原关系,尤其要检查这 2 个型与 10 型参考菌株和 10 型分离株之间的关系,以排除属于 10 型亚型的可能。最近,国内程安春等还提出了 4 个不同于 1~21 型的新型,命名为 22~25 型,但未报道这 4 个新型与已知各型进行交叉试验的数据^[6],因此,这 4 个新型之间以及它们与 1~21 型之间的抗原关系尚不清楚;此外,也需排除属于 10 型亚型的可能。

1~19 型是采用凝集试验确定的,不同研究者通过交叉凝集试验或交叉沉淀试验进行了比较研

究,认为这 19 个血清型之间确实存在明显的抗原差异^[1-3];但我们观察到 12 型与 16 型之间存在双向交叉凝集反应和单向交叉沉淀反应^[11],类似于 H2199 与 C598 之间的关系,是否属于亚型现象,还有待于分离到一些 12 型和 16 型分离株后进行进一步的研究。

参考文献:

- [1] Sandhu T S, Leister M L. Serotypes of *Pasteurella anatipestifer* isolates from poultry in different countries [J]. Avian Pathology, 1991, 20: 233~ 239.
- [2] Loh H, Teo T P, Tan H C. Serotypes of *Pasteurella anatipestifer* isolates from ducks in Singapore: a proposal of new serotypes [J]. Avian Pathology, 1992, 21: 453~ 459.
- [3] Pathanasophon P, Sawada T, Tanticharoenyos T. New serotypes of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand [J]. Avian Pathology, 1995, 24: 195~ 199.
- [4] Ryll M, Hinz K H. Exclusion of strain 620/89 as type strain for serovar 20 of *Riemerella anatipestifer* [J]. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 2000, 113(2): 65.
- [5] Pathanasophon P, Phuektes P, Tanticharoenyos T, et al. A potential new serotype of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand [J]. Avian Pathology, 2002, 31(3): 267~ 270.
- [6] 程安春,汪铭书,陈孝跃,等.我国鸭疫里默氏杆菌血清型调查及新血清型的发现和病原特性[J].中国兽医学报,2003,23(4):320~323.
- [7] 张大丙,郭玉璞.我国鸭疫里氏杆菌血清型的鉴定[J].畜牧兽医学报,1999,30(6):536~542.
- [8] 张大丙,郭玉璞.北京地区鸭传染性浆膜炎的流行病学调查[J].中国预防兽医学报,1999,21(4):260~263.
- [9] 张大丙,郭玉璞.鸭疫里氏杆菌 2 型和 17 型之间交叉反应的研究[J].中国预防兽医学报,2002,24(3):192~194.
- [10] Brogden K A, Rhoades K R, Rimler R B. Serologic types and physiologic characteristics of 46 avian *Pasteurella anatipestifer* cultures [J]. Avian Diseases, 1982, 26: 891~ 896.
- [11] 张大丙,郭玉璞.鸭疫里默氏菌 6 型、12 型和 16 型之间的交叉反应[J].中国兽医学报,2002,22(6):565~567.

Four Subtypes within Serotype 10 of *Riemerella anatipestifer* Isolates from Ducks in China

ZHANG Da-bing

(College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Fifty-eight Chinese isolates of *Riemerella anatipestifer* which agglutinated only in antiserum to serotype 10 representative strain (H2199) were further serotyped by agar gel precipitin methods. Based on precipitation patterns, these strains can be divided into four groups: the first group contained 30 isolates represented by C2, the second contained 3 isolates represented by C449, the third contained 6 isolates represented by C459, and the fourth contained 19 isolates represented by C598. Isolates in the first group showed identical to H2199, and isolates in other groups showed identical to representative strain of their own respectively, but had antigenic differences with H2199 or one another. Antigenic relationships between H2199 and four groups were further studied using slide and tube agglutination tests with adsorbed antiserum. Isolates represented by C2 were real serotype 10. Isolates identical to C459 showed distinct from H2199, such strains possessed their own specific antigenic materials, in addition they had antigens in common with H2199. The relationship between H2199 and C459 could be described as a-b-c. Similar antigenic relationships were observed between C598 and H2199, C598 and C449 respectively. However, compared with C449, C459 and C459 strains, H2199, C598 and C449 had no type-specific antigenic materials of their own in tube agglutination test respectively. So the relationship between H2199 and C449, C598 and C459, C449 and C459 can be described as b-b-c respectively. It might be better to divide the isolates agglutinated in anti H2199 serum into subtypes 1~ 4 represented by strains H2199 (or C2), C449, C459, C598 respectively.

Key words: *Riemerella anatipestifer*; serotype; subtype