

# パスツレラ症により死亡したウサギの病理学的解析及び 分離菌 *Pasteurella multocida* 血清型 -:1 の遺伝的解析

小菊夕奈<sup>1)</sup> 片山亜紀保<sup>1)</sup> 岡崎直仁<sup>1)</sup> 星野尾歌織<sup>2)</sup>  
上野勇一<sup>2)†</sup> 芝原友幸<sup>2),3)</sup>

- 1) 愛媛県家畜病性鑑定所 (〒791-0212 東温市田窪 743-1)  
2) (国研) 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 (〒305-0856 つくば市観音台 3-1-5)  
3) 大阪府立大学生命環境科学研究科 (〒598-8531 泉佐野市りんくう往来北 1-58)

(2021年4月30日受付・2021年7月20日受理)

## 要 約

ウサギ飼養施設において、1週間で10羽が相次いで斃死した。うち1羽の病性鑑定の結果、壊死性出血性気管支肺炎が認められ、肺から *Pasteurella multocida* が分離された。分離株の莢膜型推定 PCR において A 型及び F 型の両方の特異増幅産物を認めたため、莢膜合成関連遺伝子群の塩基配列解析を実施したところ、A 型及び F 型を識別する各プライマー設計部位の配列が両方保存されていた。一方、本菌は間接赤血球凝集反応による莢膜型別では型別不能であった。Multilocus sequence typing を用いた遺伝子型別では、本菌は Sequence Type (ST) 4 に型別された。ST4 と遺伝的に近縁な 10 個の ST で構成される Clonal complex 171 に型別される株がウサギから分離された報告は過去にない。

——キーワード：遺伝子型別、壊死性出血性気管支肺炎、*Pasteurella multocida*、ウサギ、血清型別。

-----日獣会誌 74, 714~720 (2021)

パスツレラ症は、*Pasteurella multocida* 感染による疾患であり、ウサギでは最も一般的な感染症の一つとされている。原因菌は健康なウサギにも高率に保菌されており、ストレスや飼育環境の不衛生等により本症が発症する。発症したウサギは、一般にスナッフ (snuffle) と呼ばれる鼻かぜの状態を呈するが、時に結膜炎や内耳炎等を併発し、肺炎を併発した場合は呼吸困難等により斃死することもある [1, 2]。病理学的には化膿性病変が認められるが特徴的な所見はない。ウサギの症例では、免疫組織化学的検査に家兎抗 *P. multocida* 血清が利用できないため、これまで病理組織学的な診断は困難であった。しかし、2020年に鶏抗 *P. multocida* 血清を用いた手法が報告され、免疫組織化学的検査は本症の診断の一助となっている [3]。

*P. multocida* は、3つの亜種 (subsp. *multocida*, subsp. *septica* 及び subsp. *gallicida*) で構成される。また、病原因子として重要な莢膜及び菌体抗原の抗原性に基づき血清型が定義されており、莢膜型は Carter [4] の方法により A, B, D, E 及び F 型に、菌体型は Hed-

dleston ら [5] の方法により 1~16 型に分類される。莢膜型は、莢膜合成関連遺伝子群を標的とした PCR により推定できる [6]。本菌は牛の出血性敗血症や豚の萎縮性鼻炎等の原因としても知られ、一部の血清型と疾病には関連が認められる。これまでの報告によると、ウサギ由来株は莢膜型 A, D 及び F 型、菌体型 1, 3, 4, 12 及び 15 型に分類されている [2, 3]。しかし、他の宿主由来菌株と比較して血清型に関する情報は少ない。

また、本菌は Multilocus sequence typing (MLST) による詳細な分子疫学解析が可能である。分離株のデータベース (PubMLST: <https://pubmlst.org/organisms/pasteurella-multocida>), (accessed 2021-04-30) に登録されているウサギ由来株 92 株のうち、58 株は Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC) 法による MLST [7] により 27 の Sequence type (ST) (ST9, ST24, ST27, ST37, ST50, ST74, ST200, ST204, ST210, ST293~305, ST310~313 及び ST365) に型別されている。アジアでは、中国及び韓国のウサギ由来株が登録されているが、日本国内分

† 連絡責任者：上野勇一 (国研) 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門)

〒305-0856 つくば市観音台 3-1-5 ☎・FAX 029-838-7857 E-mail: yuueno@affrc.go.jp

表 莢膜合成関連遺伝子の増幅及び塩基配列解析用プライマー一覧

プライマー	塩基配列 (5'-3')	参照配列 Accession No.	参照配列上の位置
PCR増幅用プライマー			
capFw	CCATGTGACAAATGGAGAGAA	AF067175	nt 4346-4366
capRv	TGAGTAAAGGATTGCGATTGC	AF067175	nt 12507-12527
塩基配列解析用プライマー			
capA1	TGCCAAAATCGCAGTCAG	AF067175	nt 8846-8863
capA2	TTATTAATCTATTACTCGTG	AF067175	nt 9056-9075
capA3	GATGCGCATTGATTTCTCG	AF067175	nt 9245-9264
capA4	GCTGGCTATGTTGGTTTATCC	AF067175	nt 9723-9743
capA5	CACTGACAATGATGGCAA	AF067175	nt 9874-9891
capA6	TTGCCATCATTGTCAGTG	AF067175	nt 9874-9891
capA7	TAACTATGCTGACGTGCCTC	AF067175	nt 10490-10509
capF1	AATCGGAGAACGCAGAAATCAG	AF302467	nt 2882-2903
capF2	CTGATTTCTGCGTTCTCCGATT	AF302467	nt 2882-2903
capF5	CGTTGGATTGGAGATTAGAAC	AF302467	nt 3512-3532
capF3	CAGAGTAATTGACGGCGGAA	AF302467	nt 3714-3733
capF4	TTCCGCCGTCAATTACTCTG	AF302467	nt 3714-3733

離株の登録はなく、また分子疫学解析の報告もない。

今回、一飼育施設で、パストレラ症が原因と疑われるウサギの集団斃死事例に遭遇した。斃死個体の肺から分離した *P. multocida* の莢膜型の判定が困難であったことから、詳細な病性鑑定と分離株の遺伝子解析を実施したのでその成績の詳細を報告する。

### 材料及び方法

**発生状況と材料：**愛媛県内の一飼育施設でウサギ29羽が意図しない繁殖により過密飼育されていた。そのため、開業獣医師により2019年10月3日～10月5日に雄5羽の去勢手術が実施され、10月7日に群飼に戻された。その約2週間後の10月31日～11月7日に29羽のうち10羽が相次いで斃死した。なお、去勢雄に斃死はなかった。原因究明のため、11月7日に斃死した1羽（雌、成獣、1.6 kg）について病性鑑定を実施した。

**病理学的検査：**剖検後、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓及び脳を10%中性緩衝ホルマリン液により固定し、定法に従いパラフィン包埋・薄切後、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色及びグラム染色を行った。グラム染色はBrown Hopps法を用いた。

**免疫組織化学的染色：**心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓及び脳の組織切片について、Uenoyamaら[3]と同様の方法で、鶏抗 *P. multocida* 1型血清を用いた免疫組織化学的染色を実施した。

**細菌学的検査：**心臓、肺、肝臓及び腎臓について、チョコレート寒天培地を用いて5%炭酸ガス条件下で24時間培養を行った。分離菌株（BD1643株）の菌種同定は、市販キット（IDテスト・HN-20ラピッド「ニッスイ」、日水製薬株、東京）を用いた生化学性状試験、菌

種特異的PCR[6]及び16S rRNA遺伝子領域の塩基配列解析により実施した。

**莢膜型別：**パストレラ莢膜型推定PCR[6]及び間接赤血球凝集反応[5]をそれぞれ既報のとおり実施し、結果を総合して莢膜型を判定した。

**莢膜合成関連遺伝子群の塩基配列解析：**後述のように、莢膜型推定PCRではA型あるいはF型の判定が困難であった。そこで、原因究明を目的として、BD1643株の莢膜合成関連遺伝子群の一部の遺伝子（Glycosyltransferase及びUDP-glucose dehydrogenase遺伝子）の塩基配列解析を実施した。本解析に使用したプライマーを表に示す。まず、DNA抽出キット（Gentra Puregene Yeast/Bact. Kit, QIAGEN, Germany）を用いてBD1643株のDNAを抽出した。抽出したDNAをテンプレートとして使用し、capFw及びcapRvのプライマーペアを用いて莢膜合成関連遺伝子群をPCR増幅した。本PCRには長鎖DNA増幅用PCR酵素（Takara LA Taq<sup>®</sup>, タカラバイオ株、滋賀）を使用した。増幅産物を精製後、capA1～A7及びcapF1～F5の12のプライマー（表）を用いて、サンガー法により、Glycosyltransferase及びUDP-glucose dehydrogenase遺伝子の塩基配列解析を実施した。得られたBD1643株の当該遺伝子領域及びTownsendら[6]が莢膜型推定PCR確立の際に参照したX-73株（A型：Accession No. AF067175）及びP4218株（F型：Accession No. AF302467）の各当該遺伝子領域を用いてアラインメント解析を実施し、各血清型の特異的プライマー（A型：CAPA-FWD, CAPA-REV, F型：CAPF-FWD, CAPF-REV）設計部位の塩基配列を比較した。さらに、BD1643株のGlycosyltransferase遺伝子を用いて

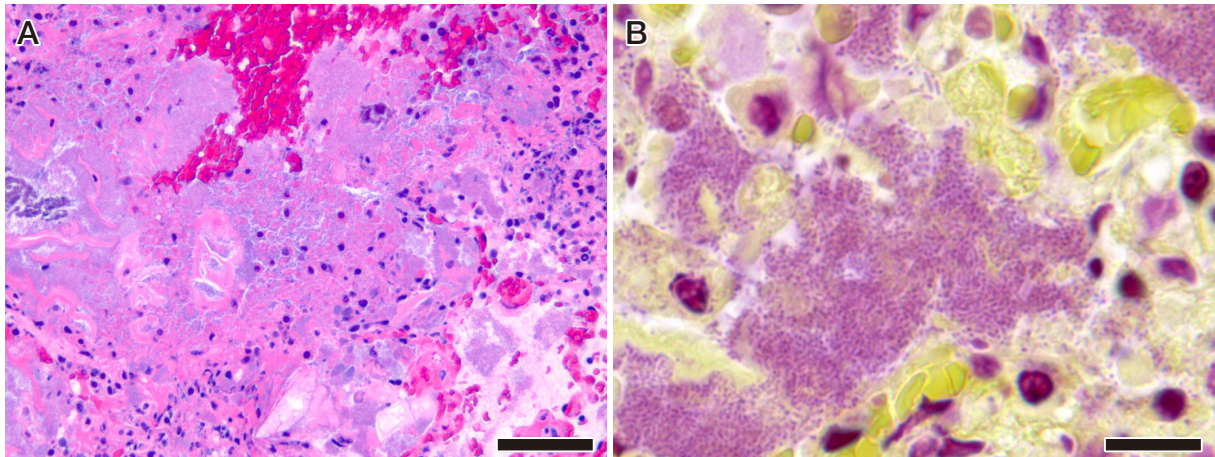


図1 ウサギの壊死性出血性気管支肺炎

A: 肺壊死病変に多数の細菌塊, マクロファージ, 偽好酸球及び出血を認める (HE 染色 Bar=50µm).

B: 肺胞腔内に多数のグラム陰性短桿菌を認める (グラム染色 Bar=10µm).

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 解析を実施し, データベース上の相同遺伝子と配列を比較した.

**菌体型別:** 菌体型 1~16 型に対する各抗血清を用いて, Uenoyama ら [3] と同様のゲル内沈降反応により菌体型を決定した.

**分子疫学解析:** Subaaharan ら [7] の報告に従い, 7 つのハウスキーピング遺伝子 (*abk*, *est*, *pmi*, *zwf*, *mdh*, *gdh* 及び *pgi*) を標的とした MLST を実施した. 得られた塩基配列を PubMLST (<https://pubmlst.org/organisms/pasteurella-multocida>), (accessed 2021-04-30) の登録配列と照合して各ハウスキーピング遺伝子のアレル番号を判別し, アレル番号の組み合わせから ST を決定した. また, データベースに登録のある海外ウサギ由来株と BD1643 株の間で各ハウスキーピング遺伝子の配列を比較し, 近隣結合法による系統樹解析を実施した.

**ウイルス学的検査:** 肝臓乳剤について, 兎出血病ウイルス (Rabbit hemorrhagic disease virus: RHDV) 遺伝子 PCR を行った [8].

## 成 績

**病理解剖所見:** 肺の一部に出血を認めた. 外貌, 他の臓器及び胃腸内容に異常はなかった.

**病理組織学的所見:** 肺では細気管支及び肺胞腔内に多数のグラム陰性短桿菌を伴うマクロファージ及び偽好酸球の浸潤を認めた. 一部では壊死や重度の出血を認めた (図 1). その他, 小葉間結合織の静脈内及び肺胞壁の毛細血管内にグラム陰性短桿菌や血栓が散見された. 心臓, 肝臓, 腎臓, 脳の小血管内及び脾臓の赤脾髄ではグラム陰性短桿菌が散見された.

**免疫組織学的染色:** 心臓, 肺, 肝臓, 脾臓, 腎臓及び脳で認められたグラム陰性短桿菌に一致して鶏抗 *P. multocida* 1 型血清に対する陽性反応が認められた (図 2).

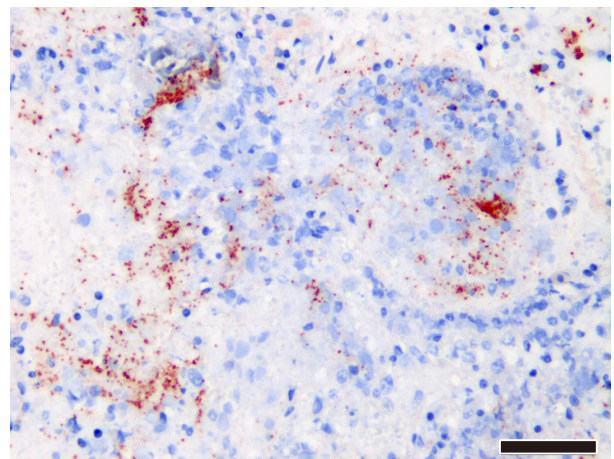


図2 鶏抗 *P. multocida* 1 型血清を用いた免疫組織化学的染色

グラム陰性短桿菌に一致して鶏抗 *P. multocida* 1 型血清に対する陽性反応が認められる (肺 IHC, Bar=50µm).

**細菌学的検査:** 肺から灰白色コロニーが分離された. 5%羊血液寒天培地を用いて発育したコロニーを単離培養したところ, 2 日間の培養で弱い溶血性を認めた. 発育したコロニーには, *P. multocida* 特有のムコイド様の粘稠感は認められなかった. 市販キット (ID テスト・HN-20 ラピッド「ニッスイ」, 日水製薬(株), 東京) を用いた生化学性状試験の結果, BD1643 株は *P. multocida* の性状と一致した (コード 7205752, 相対確率 >99%). また, 菌種特異的 PCR により *P. multocida* の特異的増幅産物を認めた. さらに, 16S rRNA 遺伝子領域の塩基配列 (Accession No. LC619668) をデータベース (EzBioCloud: <https://www.ezbiocloud.net/>), (accessed 2019-11-25) に登録されている全菌種の基準株と照合した結果, *P. multocida* subsp. *septica* 基準株 NCTC

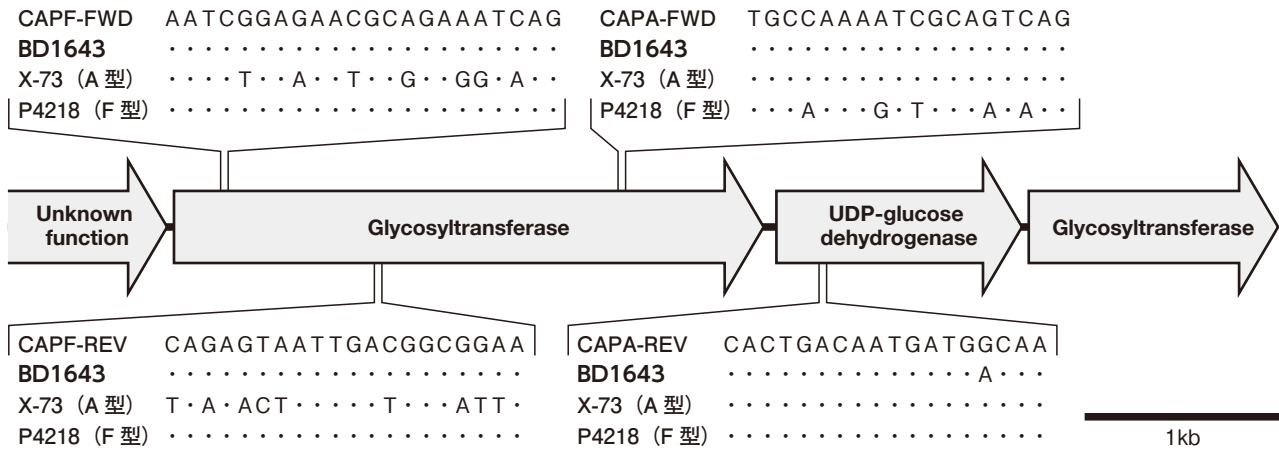


図3 莢膜血清型推定 PCR のプライマー設計部位の比較

*P. multocida* (莢膜型 A 型及び F 型) の莢膜合成関連遺伝子群の一部を示した. BD1643 株 (Accession No. LC537307), X-73 株 (A 型: Accession No. AF067175) 及び P4218 株 (F 型: Accession No. AF302467) の各莢膜型推定 PCR プライマー設計部位の塩基配列を吹き出しに示した. 吹き出しには, 各プライマーの塩基配列に対し置換が認められる塩基が表示してある.

CAPF-FWD: 莢膜型 F 型フォワードプライマー CAPF-REV: 莢膜型 F 型リバースプライマー  
 CAPA-FWD: 莢膜型 A 型フォワードプライマー CAPA-REV: 莢膜型 A 型リバースプライマー

11995 の登録配列と 99.93% (1452/1453bp), 同 subsp. *multocida* 基準株 NCTC 10322 及び同 subsp. *gallicida* 基準株 NCTC 10204 の登録配列と 98.53% (1432/1453bp) の一致率であった. その他の菌種の基準株との一致率は, いずれも 98% 未満であった. 以上の結果から, BD1643 株を *P. multocida* と同定した.

**莢膜型別:** 莢膜型推定 PCR の結果, A 型及び F 型に特異的な増幅産物の両方が認められた. 一方, 間接赤血球凝集反応では, いずれの莢膜型の抗血清に対しても凝集が認められず, BD1643 株の莢膜血清型は判定不能であった.

**莢膜合成関連遺伝子群の塩基配列解析:** BD1643 株の Glycosyltransferase 及び UDP-glucose dehydrogenase 遺伝子塩基配列解析を実施し, 配列を GenBank に登録した (Accession No. LC537307). BD1643 株, X-73 株及び P4218 株の各当該遺伝子領域を用いたアラインメント解析の結果, BD1643 株は CAPA-REV プライマーの設計部位において 5' 末端側に 1 塩基の置換 (G → A) が認められたものの, 他のプライマー (CAPF-FWD, CAPF-REV 及び CAPA-FWD) 設計部位の塩基配列はすべて保存されていた (図 3).

BD1643 株の Glycosyltransferase 遺伝子塩基配列を用いて BLAST 解析を実施したところ, 莢膜型 F 型として登録されているシチメンチョウ由来 P-4679 株 [9] が保有する同遺伝子の塩基配列 (Accession No. AF195517) と類似性が高かった (2894/2898bp: 一致率 99.9%). また, X-73 株及び P4218 株の同遺伝子塩基配列との一致率は, それぞれ 87.3% (2565/2938bp) 及び 93.3% (2707/2901bp) であった.

**菌体型別:** 試験に用いた菌体型 1~16 型の各抗血清のうち, 1 型抗血清においてのみ特異的な沈降線を認めたことから, BD1643 株の菌体型を 1 型と判定した.

**分子疫学解析:** MLST による分子疫学解析の結果, BD1643 株の 7 つのハウスキーピング遺伝子のアレル番号は, それぞれ *abk*: 1, *est*: 20, *pmi*: 16, *zwf*: 21, *mdh*: 1, *gdh*: 1 及び *pgi*: 16 と判定された. 以上のアレル番号の組み合わせから, BD1643 株の遺伝子型は ST4 と判定された. 系統樹解析の結果, BD1643 株は海外ウサギ由来株の多くが分類される系統とは異なり, *P. multocida* subsp. *septica* を含む系統と近縁であった (図 4).

**ウイルス学的検査:** RHDV 特異的遺伝子の増幅は認められなかった.

## 考 察

本事例は, 死亡した 10 羽のうち 1 羽しか病性鑑定に供試していないため断定はできないが, 発生状況を考慮すると *P. multocida* 感染によるウサギの集団斃死事例である可能性が高い. ウサギのパストレラ症は日和見感染症として知られており, 本症例のような集団での斃死発生はまれである [10].

病理組織学的検査では, グラム陰性短桿菌を伴う壊死性出血性気管支肺炎を認めた. また, 全身臓器の小血管内にグラム陰性短桿菌塊を認めた. さらに, 免疫組織化学的検査において肺及び全身臓器血管内のグラム陰性細菌塊に一致して陽性反応が認められたため, 供試したウサギは *P. multocida* 感染による敗血症を呈していたと考えられた. 他の症例 [3, 10] と比較して, 病変の強

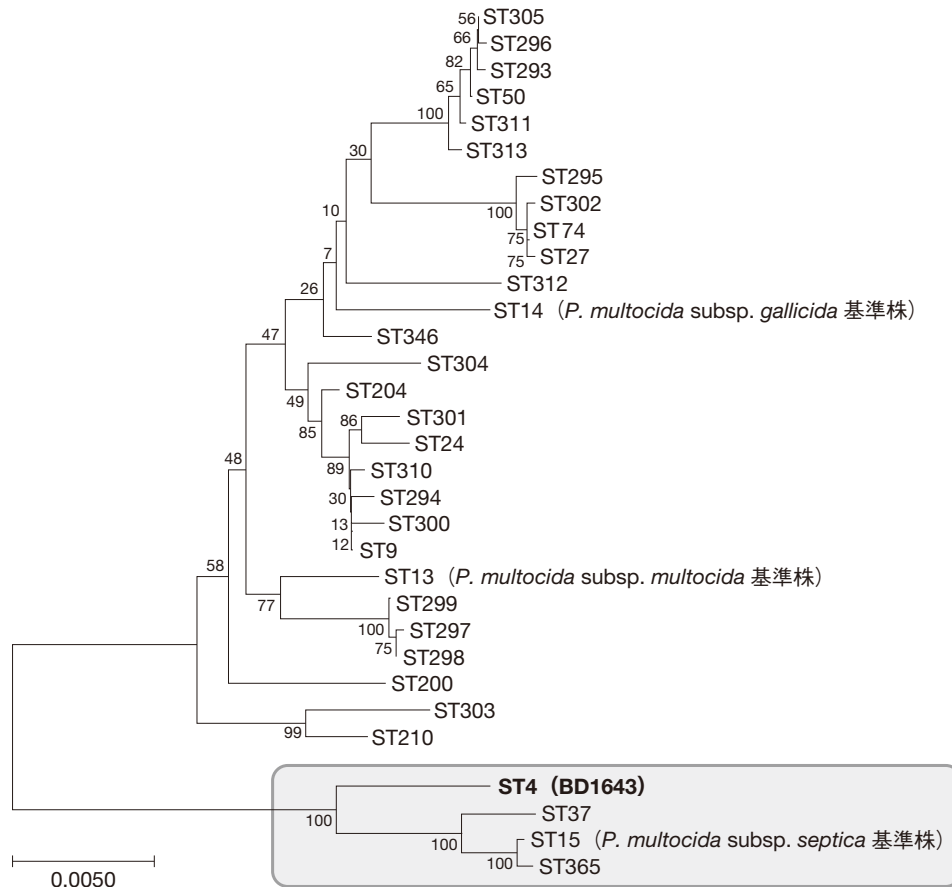


図4 *P. multocida* ウサギ由来株及び各亜種基準株のMLST解析に基づく系統樹

ブートストラップテストを1,000回繰り返して、各クラスターが再現された確率（ブートストラップ確率，%）を対応する枝の隣に記した。BD1643は本症例由来株。ST13～ST15は*P. multocida*の各亜種の基準株。BD1643株は灰色の枠で示した*P. multocida* subsp. *septica*と同一の系統に含まれた。（Bar=1塩基当たりの変異頻度）

弱及び組織病変部位の相違はあるが、病理組織学的所見はおおむね類似していた。

細菌学的検査では、肺から*P. multocida* (BD1643株)が分離された。本菌株は、莢膜型推定PCRにおいてA型及びF型に特異的な遺伝子増幅が両方認められたため、莢膜型の推定ができなかった。その原因として、BD1643株の莢膜合成関連遺伝子群の一部（Glycosyltransferase及びUDP-glucose dehydrogenase遺伝子）においてA型及びF型を識別する各プライマーの設計部位が保存されていることが判明した。CAPA-REVプライマーの設計部位には1塩基の置換が認められたが、5'末端付近であったためPCR増幅が生じたと考えられる。一方、間接赤血球凝集反応では、A及びF型を含まない抗血清に対しても凝集が認められず、BD1643株の莢膜型は不明であった。その原因として、本菌が産生する莢膜の抗原性が既知の莢膜型とは異なる可能性と寒天培地上での莢膜産生が不十分であった可能性が考えられた。BD1643株のGlycosyltransferase遺伝子の塩基配列は、莢膜型F型として登録されているP-4679株

[9]が保有する同遺伝子の塩基配列と類似性が高かった。P-4679株の他の莢膜合成関連遺伝子の塩基配列はデータベースに登録されていないため比較できなかったが、BD1643株が産生する莢膜はP-4679株が産生するF型の莢膜に性状が類似する可能性がある。莢膜は*P. multocida*の重要な病原因子の一つであるため、BD1643株が産生する莢膜とウサギの集団斃死との関連については、さらに同様の事例を蓄積し、解析する必要がある。

一方、菌体型については、Tayebら[11]の調査によるとウサギ由来株の31%（31株中12株）がBD1643株と同じ菌体型1型に型別されている。菌体型1型はウサギ由来株の一般的な菌体型の一つであるかもしれないが、ウサギ由来株の菌体型別は実施例が少ないため実態は不明である。

MLSTを用いた遺伝子型別では、BD1643株はST4に分類された。ST4は7つのハウスキーピング遺伝子のうち4つ以上が共通するST36、ST39、ST56、ST66、ST117、ST171、ST263、ST270及びST275とともに

遺伝的に近縁な Clonal Complex (CC) 171 を構成する。2021 年 4 月現在、データベース上には欧州、豪州及び米国由来の 10 株（うち 3 株は分離国不明）が CC171 として登録されており、うち 1 株は ST4 である。BD1643 株はこれらの菌株と遺伝的に近縁であると考えられる。CC171 の 10 株のうち少なくとも 3 株については荚膜型推定 PCR [6] が実施されており、ST36 及び ST39（各 1 株）の 2 株では A 型、BD1643 株と同じ ST4 の 1 株では A 及び F 型の両方の特異増幅産物が認められている [12]。ST4 に型別される株の荚膜合成関連遺伝子群には、A 及び F 型を識別する各プライマー設計部位の配列が共通して保存されているのかもしれない。

CC171 として登録されている 10 株のうち、宿主が判明しているものはすべて鳥類由来であった。ST4 及び CC171 に型別される *P. multocida* のウサギからの分離は今回が初である。本症例のようなウサギの斃死事例の発生要因としては、過密飼育等のストレスに起因する日和見感染の可能性もあるが、鳥類に多くみられる系統の菌株がウサギの集団に侵入したことにより病原性を発揮した可能性も考えられる。しかし、本症例では飼育施設における鳥類の同居や侵入は確認されなかった。本菌の遺伝的系統とウサギに対する病原性との関連について解析するためには、今後の症例及び疫学情報の集積が必要である。

稿を終えるにあたり、多くの助言をいただいた国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門の小林 勝技師、嶋田恵美技師に深謝する。

## 引用文献

- [1] 佐々木宣哉：うさぎのパスツレラ病，動物の感染症，明石博臣編，第 4 版，260，近代出版，東京（2019）
- [2] Massacci FR, Magistrali CF, Cucco L, Curcio L, Bano L, Mangili P, Scoccia E, Bisgaard M, Aalbæk B, Christensen H : Characterization of *Pasteurella multocida* involved in rabbit infections, *Vet Microbiol*, 213, 66-72 (2018)
- [3] Uenoyama K, Ueno Y, Tosaka K, Abeto Y, Ito H, Katsuda K, Shibahara T : Immunohistochemical and molecular analysis of *Pasteurella multocida* in a rabbit with suppurative pleuropneumonia, *J Vet Med Sci*, 82, 89-93 (2020)
- [4] Carter GR : The type specific capsular of *Pasteurella multocida*, *Can J Med Sci*, 30, 48-53 (1952)
- [5] Heddleston KL, Gallagher JE, Rebers PA : Fowl cholera: gel diffusion precipitin test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species, *Avian Dis*, 16, 925-936 (1972)
- [6] Townsend KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B : Genetic organization of *Pasteurella multocida cap* loci and development of a multiplex capsular PCR typing systems, *J Clin Microbiol*, 39, 924-929 (2001)
- [7] Subaaharan S, Blackall LL, Blackall PJ : Development of a multi-locus sequence typing scheme for avian isolates of *Pasteurella multocida*, *Vet Microbiol*, 141, 354-361 (2010)
- [8] Le Gall G, Arnauld C, Boilletot E, Morisse JP, Rasschaert D : Molecular epidemiology of rabbit haemorrhagic disease virus outbreaks in France during 1988 to 1995, *J Gen Virol*, 79, 11-16 (1998)
- [9] DeAngelis PL, Padgett-McCue AJ : Identification and molecular cloning of a chondroitin synthase from *Pasteurella multocida* type F, *J Biol Chem*, 275, 24124-24129 (2000)
- [10] 関口真樹：ウサギの *Pasteurella multocida* による化膿性胸膜肺炎，日獣会誌，71，253（2018）
- [11] El Tayeb AB, Morishita TY, Angrick EJ : Evaluation of *Pasteurella multocida* isolated from rabbits by capsular typing, somatic serotyping, and restriction endonuclease analysis, *J Vet Diagn Invest*, 16, 121-125 (2004)
- [12] Bisgaard M, Petersen A, Christensen H : Multilocus sequence analysis of *Pasteurella multocida* demonstrates a type species under development, *Microbiology*, 159, 580-590 (2013)

Pathological Analysis of a Rabbit that Died from Pasteurellosis and Genetic Analysis of *Pasteurella multocida* serotype -:1 Isolated from the Case

Yuna KOGIKU<sup>1)</sup>, Akiho KATAYAMA<sup>1)</sup>, Naohito OKAZAKI<sup>1)</sup>, Kaori HOSHINO<sup>2)</sup>,  
Yuichi UENO<sup>2)†</sup> and Tomoyuki SHIBAHARA<sup>2),3)</sup>

- 1) *Livestock Disease Diagnostic Center, Ehime Prefecture, 743-1 Tanokubo, Toon, 791-0212, Japan*
- 2) *National Institute of Animal Health, National Agriculture and Food Research Organization, 3-1-5 Kannondai, Tsukuba, 305-0856, Japan*
- 3) *Department of Veterinary Science, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University, 1-58 Rinkuourai-Kita, Izumisano, 598-8531, Japan*

SUMMARY

In a rabbit breeding facility, 10 rabbits died successively within a week. Upon the pathological examination of a rabbit, necrotizing hemorrhagic bronchopneumonia was found. *Pasteurella multocida* was isolated from the lung lesion. A capsular typing polymerase chain reaction of the isolate yielded both types A- and F-specific amplification products. DNA sequencing of its capsule biosynthetic loci revealed that the isolate preserved all sequences of types A and F primer design sites. However, the capsular serotype of the isolate could not be determined by an indirect hemagglutination reaction. The isolate was classified into sequence type (ST) 4 using multilocus sequence typing following the Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC) scheme. This is the first report on the isolation from a rabbit of a *P. multocida* grouped into clonal complex 171 consisting of ST4, ST36, ST39, ST56, ST66, ST117, ST171, ST263, ST270 and ST275.

— Key words : genotyping, necrotizing hemorrhagic bronchopneumonia, *Pasteurella multocida*, rabbit, serotyping.

† Correspondence to : Yuichi UENO (National Institute of Animal Health, National Agriculture and Food Research Organization)

3-1-5 Kannondai, Tsukuba, 305-0856, Japan

TEL · FAX 029-838-7857 E-mail : yuueno@affrc.go.jp

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 74, 714 ~ 720 (2021)