



## Hallazgos patológicos de la infección por *Clostridium perfringens* en animales domésticos

### Pathology hallmarks of *Clostridium perfringens* infection in domestic animals

Cristina Ibarra-Zazueta<sup>1</sup>, Gilberto Ballesteros-Rodea<sup>2</sup>,  
Gerardo Noé Rosales-Martínez<sup>3</sup>, Luz Yosahandy Peña-Avelino<sup>3</sup>, Jorge Alva-Pérez<sup>3\*</sup>

#### RESUMEN

*Clostridium perfringens* es una bacteria anaerobia, Gram positiva en forma de bastón, que produce esporas y es aerotolerante. Este agente puede habitar en suelo y en la microbiota intestinal de animales adultos sanos, donde se favorece su diseminación y por ello las infecciones por *Clostridium perfringens* son frecuentes en animales de interés doméstico y en humanos. Es el principal causante de enterotoxemia, aunque puede no ser el principal agente etiológico. La producción de toxinas, clasificadas del tipo A al G, y la toxemia subsecuente se presentan en animales jóvenes y adultos, en los que puede provocar hasta el 100% de mortalidad. Dentro de los hallazgos patológicos se observan diversos grados de enteritis (íleon y colon) así como lesiones en encéfalo y mesencéfalo, aparato urinario y músculo por el daño endotelial grave. Es importante conocer los hallazgos patológicos de los diferentes toxinotipos asociados a esta bacteria con el objetivo de reconocer esta enfermedad y poder controlar su aparición.

Palabras clave: *Clostridium perfringens*, diarrea, enteritis, enterotoxemia, toxinas.

#### ABSTRACT

*Clostridium perfringens* infections are frequent in domestic animals and humans. It is an anaerobic, Gram-positive, rod-shaped, spore-producing, aerotolerant bacterium. This agent can inhabit soil as well as the intestinal microbiota of healthy adult animals, which favors dissemination in the environment. It is the main cause of enterotoxemia, although it is not the main actor in the definitive diagnosis. The production of toxins, classified from type A to G, and the subsequent toxemia occur in young and adult animals, causing up to 100% mortality. Pathological findings include various degrees of enteritis (ileum and colon), diarrhea and lesions in the brain and midbrain, urinary system and muscle due to severe endothelial damage. It is important to know the pathological findings of the different toxinotypes associated with this bacterium in order to learn about this disease and be able to control its appearance.

Keywords: *Clostridium perfringens*, diarrhea, enteritis, enterotoxemia, toxins.

**Autor para correspondencia:** jalva@docentes.uat.edu.mx

**Fecha de aceptación:** 31 de julio de 2024

**Fecha de recepción:** 24 de junio de 2024

**Fecha de publicación:** 8 de agosto de 2024

<sup>1</sup>Departamento de Agricultura y Ganadería, Universidad de Sonora, Hermosillo Sonora, México.

<sup>2</sup>Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, México

<sup>3</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Ciudad Victoria, Tamaulipas. México.

## INTRODUCCIÓN

*Clostridium perfringens* es una bacteria Gram positiva, en forma de bastón, anaerobia y esporulante (García et al., 2012). Es uno de los patógenos con mayor distribución, debido a que puede ser aislado del suelo y agua residual, además de formar parte de la microbiota intestinal de animales y humanos (Morris & Fernández-Miyakawa, 2009; Hassan et al., 2015). La bacteria crece en medios ricos en carbohidratos en los que a partir de la fermentación produce hidrógeno y dióxido de carbono, lo que le ayuda a mantener el ambiente anaeróbico (Morris & Fernández-Miyakawa, 2009). A diferencia de otras bacterias anaerobias obligadas, *C. perfringens* tiene una alta resistencia al oxígeno y se puede mantener viable en su presencia (Grenda et al., 2023). Esta bacteria produce infección intestinal que se manifiesta en tres entidades patológicas como enteritis, enterocolitis y/o enterotoxemia (Jayaraman et al., 2013; Shrestha et al., 2018; Grenda et al., 2023). Las enterotoxemias producidas por *Clostridium perfringens* se encuentra en una gran variedad de animales domésticos y el hombre (Redondo, 2015; Uzal et al., 2018). En la enterotoxemia la producción de toxinas (Tabla 1 y 2) se presentan a nivel del íleon, principalmente (Layana et al., 2006; Navarro et al., 2018) y en menor medida en el colon, con su subsecuente absorción.

■ Tabla 1. Toxinotipos de *C. perfringens*, perfil de toxinas producidas y enfermedades asociadas.

Toxinotipo	Toxinas típicas						Toxinas no típicas*			Enfermedades y especies afectadas
	CPA (cpa/plc)	CPB (cpb)	ETX (etx)	ITX (iap, ibp, itx)	CPE (cpe)	NetB (netB)	β2 (cpb 2)	λ (lam)	θ (pfo)	
A	+	-	-	-	-	-	+	-	+	Gangrena gaseosa en humanos y animales, enteritis necrótica en aves y lechones, intoxicación alimentaria humana y diarrea asociada a antibióticos.
B	+	+	+	-	-	-	+	+	+	Enteritis hemorrágica en terneros, potros y ovejas, disentería en corderos.
C	+	+	-	-	+	-	+	-	+	Enterotoxemia en ovejas, enteritis necrotizante en humanos, cerdos, terneros, cabras y potros.
D	+	-	+	-	+	-	+	-	+	Enterotoxemia en corderos (enfermedad del riñón pulposo), cabras y bovinos.
E	+	-	-	+	+	-	+	+	+	Enterotoxemia en terneros y corderos.
F	+	-	-	-	+	-	+	-	+	Intoxicación por alimentos en personas y animales.
G	+	-	-	-	-	+	+	-	+	Enteritis necrótica aviar

CPA: toxina alfa, codificada por el gen *cpa/plc*; CPB: toxina beta, codificado por el gen *cpb*; ETX: Toxina épsilon, codificado por el gen *etx*; ITX: Toxinas iota, codificadas por los genes *iap*, *ibp* e *itx*; CPE: enterotoxina, codificada por el gen *cpe*; NetB: Toxina B de enteritis necrótica, codificada por el gen *netB*; β2: Toxina beta-2, codificada por el gen *cpb2*; λ: Toxina lambda, codificada por el gen *lam*; θ: perfringolisina, codificada por el gen *pfo*. Adaptado de (Kiu & Hall, 2018; Mehdizadeh Gohari et al., 2021; Grenda et al., 2023). +: presencia, -: ausencia, + en algunos serotipos puede estar presente. \*La producción de toxinas no típicas es potencial.

El efecto de las toxinas se puede observar, tanto de manera local como sistémica (Uzal, 2010). Por otro lado, la enteritis es causada por la acción de estas toxinas (Cooper et al., 2013).

En la infección por *Clostridium perfringens* la mayoría de las manifestaciones clínicas en mamíferos son debidas a las entidades patológicas antes descritas. La manifestación clínica de la infección incluye pérdida de apetito, letargo, diarrea, cólicos, deshidratación y en casos severos la muerte en mamíferos (Uzal & Songer, 2008). En aves la forma clínica produce plumas erizadas, gases fétidos y diarrea (Muneeb et al., 2024).

Es importante mencionar que *C. perfringens* no es la única especie de *Clostridium* involucrado en enterotoxemia, otras especies como *C. sordelli*, *C. difficile*, *C. fallax* y *C. barallii* también pueden estar involucradas en una patología similar producida por *Clostridium perfringens* (Cooper et al., 2013; Redondo, 2015; Uzal et al., 2018).

Las principales lesiones se observan en el colon e intestino delgado, esto depende de las toxinas secretadas (Ali Nasir et al., 2015; Zaragoza et al., 2019). La toxemia se manifiesta principalmente en animales jóvenes, manifestándose con una muerte súbita (Eroksuz et al., 2018).

Los diagnósticos de los problemas entéricos (enteritis, enterocolitis y enterotoxemia) asociados a la infección por *Clostridium* spp, debe incluir tanto la historia clínica, la valoración de la semiótica y el análisis de las lesiones en los diferentes tejidos. La identificación molecular puede ser de gran utilidad para establecer el diagnóstico final (Abd El-Hack et al., 2022).

### Producción de toxinas

Para entender la fisiopatología de *C. perfringens*, así como su acción (sistémica o local) en diferentes hospedadores, se ha clasificado esta bacteria en siete diferentes tipos (toxintipos), basado en su capacidad para producir y secretar toxinas (Tabla 1) García et al., 2012; Uzal et al., 2018). Esta bacteria es capaz de producir 20 diferentes tipos de toxinas muchas de ellas se encuentran codificados en ADN plasmídico (Kiu & Hall, 2018; Grenda et al., 2023). Las acciones de las diferentes toxinas son variadas, en su mayoría producen muerte celular (Tabla 2).

Las principales toxinas que producen daño tisular y mortalidad en animales domésticos son la toxina alfa (CPA), toxina beta (CPB), toxina épsilon (ETX), toxina iota (ITX), enterotoxina (CPE) y toxina tipo B productora de enteritis necrótica (NetB) (Eroksuz et al., 2018; Navarro et al., 2018; Uzal et al., 2018). La patogenia de cada toxintipo depende del repertorio de toxinas que producen (Abd El-Hack et al., 2022; Mohiuddin et al., 2023). Mientras que algunas toxinas provocan daño únicamente a nivel intestinal (como ITX), algunas otras son absorbidas por el torrente sanguíneo y ocasionan lesiones en diferentes tejidos. Es importante mencionar que en este artículo de revisión se describirá el grupo de toxinas más significativas de cada toxintipo (principales factores de virulencia). Sin embargo, existen un gran repertorio de toxinas y proteínas diferentes (codificadas en plásmidos de diferentes tipos, o a nivel cromosomal) que coadyuvan al daño tisular y por ende a la sobrevivencia de *C. perfringens* (Tabla 2). Esta bacteria cuenta con colagenasas, sialidasas, hialuronidasas, proteínas de unión al colágeno, perfringolisina O, entre otras proteínas que pueden o no actuar de manera sinérgica con las toxinas antes descritas, contribuyendo así con la patogenia (Lee & Lillehoj, 2021).

■ Tabla 2. Características de las toxinas producidas por *C. perfringens*.

Toxina	Actividad biológica	Diana Celular	Tamaño molecular (KDa)	Referencia
CPA	Fosfolipasa C y esfingomielinasa, activación de la señalización de la célula huésped.	Membrana citoplasmática.	42.5	(Ferreira et al., 2016; Forti et al., 2020; Mehdizadeh et al., 2021)
CPB	Toxina formadora de poros	Membrana citoplasmática.	35	(Garcia et al., 2012; Navarro et al., 2018; Uzal et al., 2018)
ETX	Toxina formadora de poros	Membrana citoplasmática.	33	(Navarro et al., 2018; Uzal et al., 2018; Wan et al., 2023)
ITX	ADP-ribosiltransferasa específica de actina	Citoesqueleto	32.98 lota a: 47.5 lota b: 71.5	(Sakurai et al., 2009)
CPE	Toxina formadora de poros	Membrana citoplasmática.	35	(Caserta et al., 2011; Uzal et al., 2018)
<i>NetB</i>	Toxina formadora de poros	Membrana citoplasmática.	33	(Keyburn et al., 2010; Lee & Lillehoj, 2021)
$\beta 2$ <i>cpb2</i>	Supuesta toxina formadora de poros	Membrana citoplasmática.	28	(Forti et al., 2020; Serroni et al., 2022)
$\lambda$ <i>lam</i>	Toxina formadora de poros	Membrana citoplasmática.	32	(Seike et al., 2022; Ou et al., 2024)
$\theta$ <i>pfo</i>	Toxina formadora de poros; Colesterol-citolisina dependiente	Membrana citoplasmática.	54	(Singh et al., 2022; Liu et al., 2024)

## Enfermedades producidas y hospedadores

### *Enterotoxemia por C. perfringens A*

*C. perfringens A* (productora de toxina CPA) ha tenido poca relación con enterotoxemia en rumiantes, caninos y cerdos. Sin embargo, se ha determinado que CPA está involucrada en gangrena gaseosa muscular (Grenda et al., 2023). De hecho, en seres humanos la toxina CPA es hemolítica y dermonecrotica, y es la principal responsable de la mionecrosis clostridial que puede producir edema subcutáneo, enfisema, falla multiorgánica e incluso la muerte (Navarro et al., 2018). Esta toxina se compone de un dominio amino-catalítico y el dominio carboxilo de membrana, que permite la unión con esfingolípidos, principalmente fosfatidilcolina y esfingomielina, produciendo hidrólisis de estas. Por otro lado, CPA también puede unirse a gangliósidos de membrana celular. El efecto es traducido como desestabilización de membrana, lo que produce lisis celular y necrosis (Navarro et al., 2018).

La enterotoxemia por CPA es la principal etiología de la enfermedad del cordero amarillo, una enterotoxemia letal en corderos (Uzal & Songer, 2008). Además de *C. perfringens A*, todos los toxinotipos pueden producir CPA (además de compartir las toxinas  $\alpha$ ,  $\beta 2$  y  $\theta$ , Tabla 1), por lo que

cualquier toxintipo tendrá la capacidad de producir la enfermedad del cordero amarillo. La ictericia, anemia y hemoglobinuria, como principales signos clínicos, son observados en estos animales (Uzal et al., 2022). Cuando estos signos clínicos son evidentes, la supervivencia de los corderos no sobrepasa las 12 horas. En corderos muertos, a veces, puede observarse únicamente ictericia. En lesiones encontradas a la necropsia se puede observar hígado friable y pálido, esplenomegalia y nefrosis (Uzal & Songer, 2008). En algunos casos, puede haber congestión pulmonar y edema. En caninos, se ha relacionado *C. perfringens* A con la presencia de gastroenteritis hemorrágica mientras que, en potros, con enterocolitis necrotizante (Redondo, 2015).

### **Enterotoxemia por *C. perfringens* B**

El toxintipo B de *C. perfringens* produce tres toxinas principales: CPA, CPB y ETX (Wan et al., 2023). El efecto de CPA se ha discutido con anterioridad. Por otro lado, CPB y ETX se han identificado como toxinas potentes con diversos efectos. La toxina CPB de *Clostridium perfringens* actúa formando poros en las membranas celulares de las células diana (principalmente células endoteliales, por oligomerización), lo que lleva a un desequilibrio osmótico y lisis celular. Se ha observado que CPB puede unirse al receptor celular P2X7-asociado a ATP. A nivel tisular, la disrupción de las células endoteliales de la submucosa produce retracción de la mucosa intestinal. Este mecanismo es responsable del daño tisular severo observado en enfermedades como la enteritis necrótica y la enterotoxemia en animales (Navarro et al., 2018). La toxina CPB es sensible a la digestión e inactivación por tripsina, enzima que se encuentra en concentraciones bajas en neonatos; esto favorece que en corderos y cabritos se manifieste la enfermedad conocida como disentería del cordero, enfermedad que se manifiesta como enteritis hemorrágica (Redondo, 2015). Por otro lado, la toxina ETX es secretada como protoxina, y su acción se potencializa hasta 1000 veces cuando sufre proteólisis a nivel intestinal (Bokori-Brown et al., 2011). La toxemia por ETX se manifiesta en animales adultos hospedadores con una concentración normal de tripsina, en comparación con hospedadores neonatos (Wan et al., 2023). La toxina es conocida por ser una citotoxina heptamérica formadora de poros en la membrana celular, que, aunque es producida a nivel intestinal, su absorción sanguínea permite que tenga efectos sistémicos, principalmente en riñón, pulmones y sistema nervioso central. Aunque no se conoce completamente el mecanismo, se ha determinado que ETX se absorbe a nivel intestinal debido a los cambios degenerativos de la lámina propia del intestino. No se ha dilucidado por completo los receptores celulares específicos para ETX, sin embargo, se reconoce que la enzima de membrana esfingomielinasa neutral (nSMase), así como la proteína de mielina y de linfocitos (MAL) están involucradas en la formación de la oligomerización de la toxina que produce poros celulares. El efecto celular es observado como hinchazón celular, vacuolización y finalmente necrosis (Navarro et al., 2018). Se ha observado que la toxina daña directamente las células endoteliales de la barrera hematoencefálica, produciendo edema cerebral, aumento de la presión intracraneal y daño directo a las neuronas y oligodendrocitos (Navarro et al., 2018; Finnie & Uzal, 2024).

*C. perfringens* B provoca en borregos adultos una enteritis que tiende a la cronicidad. Se ha determinado que ETX se absorbe en sangre y es responsable de la aparición de signos neurológicos (Freedman et al., 2016). En contraste, CPB es responsable de los signos clínicos observados en animales jóvenes (Wan et al., 2023). Los signos clínicos de la disentería del cordero incluyen dolor agudo abdominal y diarrea sanguinolenta, sin embargo, puede haber muerte súbita sin signos clínicos. En cabritos los signos pueden ser similares. En animales mayores a los 14 días es más probable observar signos clínicos tales como dolor abdominal, timpanismo, anorexia, depresión e incapacidad para moverse (Redondo, 2015). El mecanismo de acción de la toxina CPA ha sido

descrita con anterioridad. *C. perfringens* B produce enteritis necrotizante en becerros, lechones y potros, aunque no es común. Entre las lesiones detectadas a la necropsia se encuentran una enteritis necrotizante y hemorrágica, que predomina principalmente en el íleon. Se han realizado evaluaciones en otras especies (ratones) y las lesiones ocurren en el colon y ciego (Losada-Eaton & Fernandez-Miyakawa, 2010). En casos agudos se ha observado hiperemia intestinal y mesentérica. En el contenido intestinal se pueden encontrar restos sanguinolentos mezclado con fibrina (enteritis fibronectínica extensiva, difusa o segmental). También es observable un edema serosanguinolento que se puede llegar a extender en la cavidad torácica (Uzal & Songer, 2008). En pollos de engorda, los signos incluyen daño en intestino y la presencia de plumas erizadas (Mohiuddin et al., 2023).

En rumiantes adultos con enterotoxemia crónica se observa encefalomalacia simétrica focal (ESF), por acción de ETX, lesión característica del sistema nervioso central, observada principalmente en la enterotoxemia por *C. perfringens* D (Ali-Nasir et al., 2015). En el caso de la enteritis producida por *C. perfringens* B histológicamente se podrá apreciar la pérdida de las vellosidades intestinales (necrosis de epitelio con restos de fibrina). Si el hospedador sobrevive, la atrofia será más evidente (Kusiluka & Kambarage, 1996). En casos agudos no es común la presencia de infiltrado inflamatorio, aunque puede llegar a observarse. Además, es probable encontrar los bacilos Gram positivos asociados con la mucosa intestinal. A excepción de ESF, las lesiones intestinales son similares a la enteritis observada por *C. perfringens* (Uzal & Songer, 2008).

### **Enterotoxemia por *C. perfringens* C**

Debido a que *C. perfringens* tipo B y C comparten la síntesis y secreción de CPB, los signos clínicos y lesiones son similares entre las infecciones producidas por ambos toxinotipos (García et al., 2012; He et al., 2023). Sin embargo, en algunos serotipos de *C. perfringens* C se puede observar la participación de CPE en la patogenia. Esto es debido a que CPB se transcribe a partir de ADN plasmídico, y en algunos serotipos, este plásmido también puede encontrarse CPE (Kiu & Hall, 2018). La toxina CPE es el principal factor de virulencia de *C. perfringens* F, también puede estar presente en *C. perfringens* D. La toxina CPE de *Clostridium perfringens* actúa a través de la unión a proteínas de la familia claudina, proteínas de membrana celular localizadas en el borde apical de las células epiteliales intestinales. Se ha reconocido como receptores a las proteínas claudina 3, 4, 6, 8 y 14, mientras que el ligando específico se encuentra en la porción amino terminal de la toxina. Una vez que la toxina se une con los receptores específicos, se forman pequeños complejos multiproteicos sobre la membrana celular del enterocito. Al unirse al menos seis de estos complejos se da lugar a la formación del poro (inserción de la toxina en la membrana celular,  $\beta$ -barril), que es permeable a calcio. Finalmente, el ingreso excesivo de calcio produce muerte celular (Navarro et al., 2018). La acción de CPE se manifiesta a través del daño de los enterocitos (principalmente en el íleon, aunque toda la mucosa intestinal es susceptible), produciendo oncosis y necrosis. Esto promueve cambios en la permeabilidad celular del epitelio intestinal lo que produce diarrea. La acción de esta toxina se manifiesta como eritema a nivel sistémico e inflamación (enteritis) a nivel local (Shrestha et al., 2018).

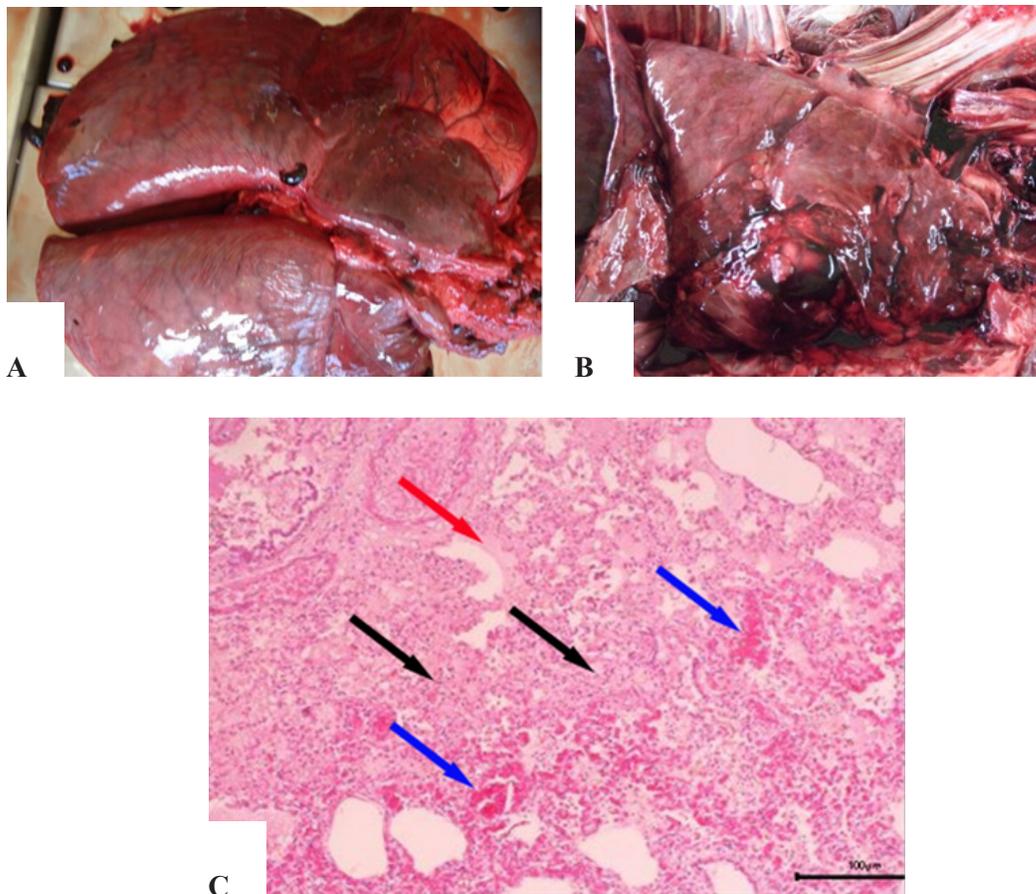
En la mayoría de las especies domésticas *C. perfringens* C produce enterocolitis, enteritis necrótica y enterotoxemia en neonatos (García et al., 2012). Los signos clínicos incluyen dolor abdominal agudo, depresión y diarrea sanguinolenta en diferentes especies (Cooper & Songer, 2010). La semiótica en animales, así como la sintomatología en humanos es de carácter agudo e hiperagudo, con mortalidad elevada. La enteritis en animales adultos por *C. perfringens* tipo C se caracteriza por una diarrea persistente y deshidratación (García et al., 2012). En ovinos se ha relacionado la

infección de este toxinotipo con muerte súbita en adultos (enfermedad conocida como “*struck*” en inglés). Las lesiones sistémicas por esta enterotoxemia no son específicas. Puede haber congestión pulmonar, edema y hemorragia (Redondo, 2015).

### *Enterotoxemia por C. perfringens D*

La principal toxina producida por *C. perfringens* tipo D es ETX (Uzal et al., 2018), cuyos receptores y mecanismos de acción a nivel celular fueron descritos con anterioridad. Esta es una de las toxinas más potentes conocidas en el ambiente, con una dosis letal de 100 ng en ratones (Losada-Eaton & Fernandez-Miyakawa, 2010). Este toxinotipo produce la principal enterotoxemia (de curso agudo, subagudo o crónico) observada en ovinos y caprinos. Existen pocos reportes de enterotoxemia de tipo D en becerros en comparación con borregos y cabras (Uzal & Songer, 2008; Pawaiya et al., 2020). El curso agudo es más común en animales no vacunados o animales jóvenes, con una mortalidad cercana al 100%, sin la aparición de signos clínicos o lesiones (Layana et al., 2006). ETX también está presente en *C. perfringens* B, y al igual que *C. perfringens* D, puede observarse presentaciones clínicas similares. Ha sido descrita como una toxina potente a nivel neurológico, que aumenta la presión vascular, produce contractibilidad del músculo liso y edema pulmonar (Figura 1).

Es la principal causante de colitis en caprinos. A nivel cerebral, la toxina produce deterioro endotelial



■ Figura 1. Edema pulmonar observado en pequeños rumiantes. a) edema pulmonar en borrego por acción de *C. perfringens* D, b) edema pulmonar y hemorragia en cabrito por enterotoxemia tipo D, c) detalle histológico de la lesión en observándose infiltrado de células inflamatorias (flecha negra), hemorragia (flecha azul) y edema (flecha roja). Barra = 100 µm.

vascular y también produce edema. Este edema causa daño de los astrocitos (primero hinchazón y después ruptura). También se ha reportado que es citotóxica para las neuronas. El conjunto de estos daños es observado en el paciente como hemorragia cerebral. La hemorragia y el daño de los astrocitos produce necrosis del parénquima cerebral (Gangwar et al., 2021). Es esta necrosis del parénquima (morfológicamente observada como necrosis focal bilateral) la causante de los signos clínicos neurológicos como opistótonos (Figura 2), convulsiones, respiración forzada con espuma en cavidad oral y nariñas, recumbencia con pataleo, entre otros. En rumiantes se ha asociado la enterotoxemia del tipo D a cambios repentinos en la dieta. Las dietas altas en carbohidratos (granos) o dietas altas en forraje fresco pueden producir el ambiente intestinal idóneo para la proliferación de *C. perfringens* D. Se ha determinado que algunos fármacos, como fenotiazina y netobimina pueden favorecer la enterotoxemia por *C. perfringens* D. La diarrea es un signo ocasional que puede observarse en ovinos. En caprinos la semiótica en adultos incluye diarrea hemorrágica, dolor abdominal, convulsiones y opistótonos. La muerte sobreviene de 2 a 4 días posterior a la aparición de los signos clínicos (Uzal et al., 2018).

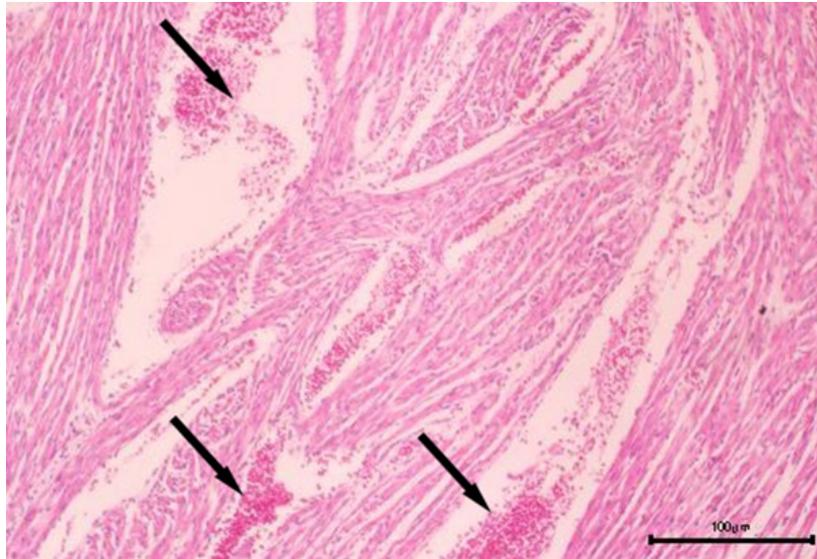


■ Figura 2. Opistótonos en borregos con enteritis hemorrágica asociado a *C. perfringens* D.

La forma crónica de la enfermedad, tanto en ovinos y caprinos, puede durar días; incluso semanas. Esta presentación ocurre en animales vacunados y la semiótica comprende diarrea acuosa con moco, debilidad, dolor abdominal, anorexia y disminución de producción láctea (Uzal & Songer, 2008). En las lesiones microscópicas causadas por *C. perfringens* tipo D se observa congestión de los vasos sanguíneos en la corteza cerebral (Gangwar et al., 2021). En ovinos con enterotoxemia crónica se ocasiona una hernia del vermis cerebelar. Otra de las lesiones características es la ESF, caracterizada por focos hemorrágicos oscuros en cuerpo estriado, tálamo, mesencéfalo y pedúnculos cerebelares, aunque también aparece en corteza cerebral e hipocampo.

En el 90% de los casos se observan lesiones microscópicas en el cerebro, mismas que son consideradas patognomónicas (Uzal, 2004). Estas lesiones se definen patológicamente como edema perivascular proteináceo. Microscópicamente la ESF se observa como una degeneración de la sustancia blanca, hemorragia e hinchazón celular de astrocitos y degeneración axonal (Salvarani et al., 2019). El edema perivascular, la degeneración y necrosis del parénquima cerebral son siempre bilaterales y simétricos. Otras lesiones durante la necropsia incluyen edema pulmonar, daño vascular endotelial y hemorragia en endocardio (Figura 3).

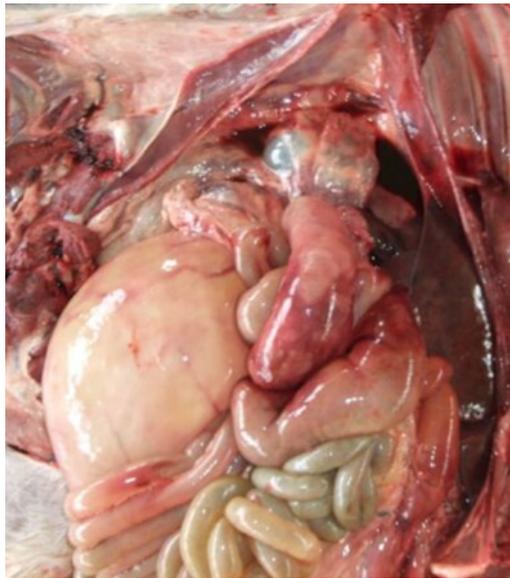
La enteritis se caracteriza por hiperemia en la mucosa con restos sanguinolentos (con o sin residuos



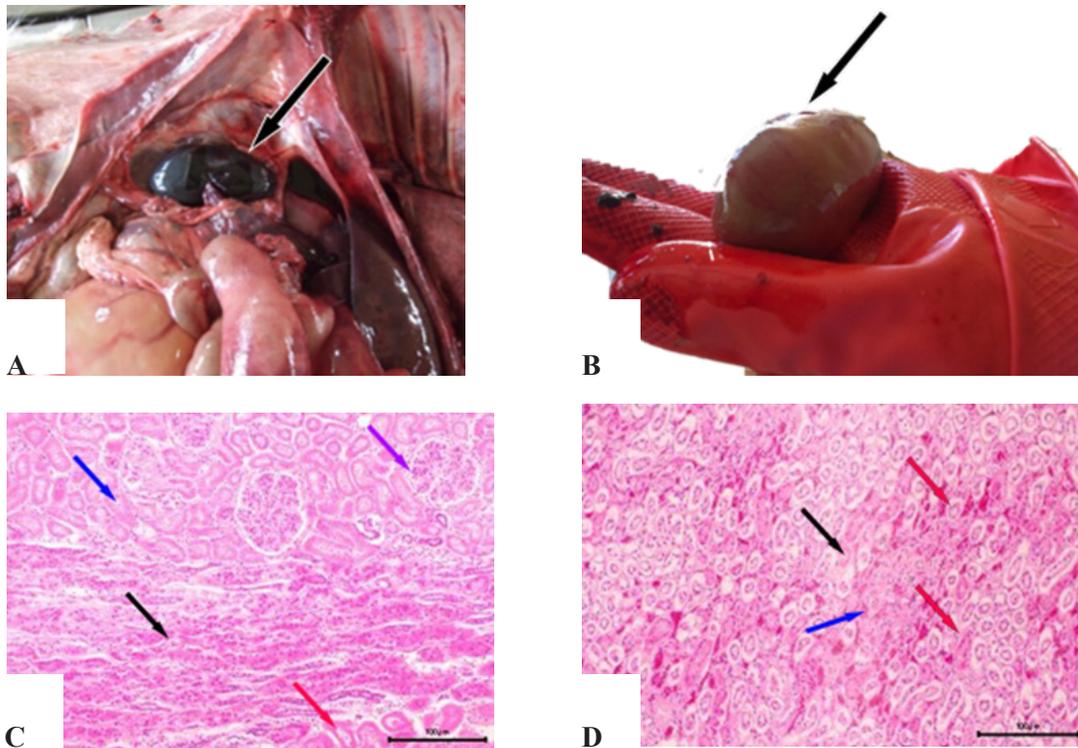
■ Figura 3. Miocardio en caprino. Daño endotelial y hemorragia (flecha negra). Barra = 100 μm.

de fibrina) aunque puede no encontrarse en casos agudos e hiperagudos (Gangwar et al., 2021). La serosa intestinal se observa con petequias. En caprinos, la forma crónica de la enfermedad cursa con colitis fibrinohemorrágica. En algunas ocasiones, el íleon puede verse involucrado (Figura 4) (Ali Nasir et al., 2015). La consistencia del riñón (Figura 5 a-d), del cual deriva el nombre de la enfermedad “riñón pulposo”, es un cambio *post mortem*, característica únicamente observada en ovinos (Redondo, 2015).

***Enterotoxemia por C. perfringens E***



■ Figura 4. Vista de la serosa del colon (c) e íleon (i) en un cabrito con enterotoxemia por *C. perfringens* tipo D. Obsérvese la serosa hiperémica y el colon distendido por presencia de gas, en el íleon puede observarse gran presencia de gas y resto de alimento parcialmente digerido.

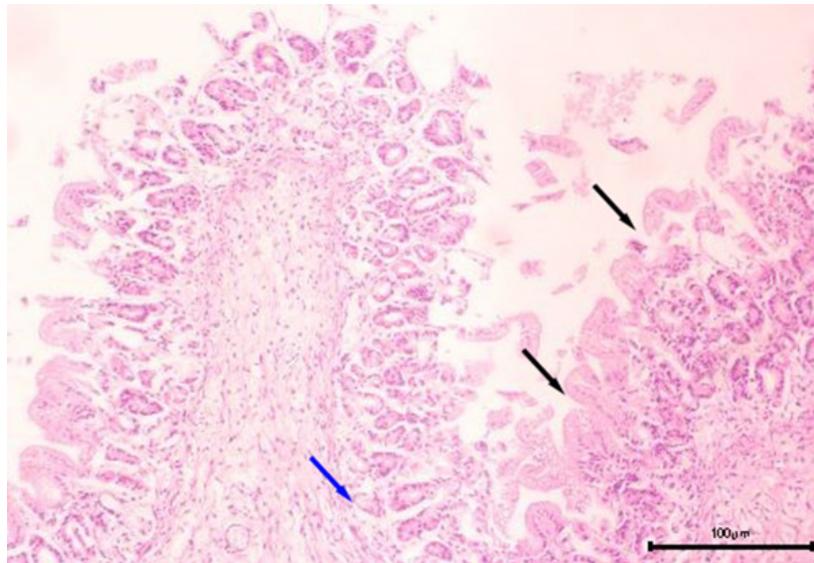


■ Figura 5. Riñón pulposo en borrego. a y b) En cuadros agudos se presenta daño vascular donde se puede observar zonas de congestión y hemorragia renal severa difusa (flecha negra). c) Descripción histológica de riñón con tinción H&E, a nivel corticomedular los glomérulos presentan células tumefactas, y proliferación de células del mesangio (flecha negra). Se pueden distinguir los túbulos presentes en corteza sin núcleos y elementos celulares que se pueden apreciar (flecha azul), y en contraste los túbulos a nivel medular se observan ligeramente tumefactos y con núcleos picnóticos, característico de “Riñón Pulposo” (flecha roja). A nivel glomerular algunos se observan atróficos y otros muy celulares con tumefacción en donde no se observa espacio de la capsula de Bowman y capilares vasculares (flecha morada) d) Microfotografía tinción H&E 40X, corte histológico de riñón en donde se observa túbulos contorneados tumefactos sin evidencia de luz (flecha negra), las células se distinguen por presentar abundante citoplasma y pérdida de núcleo y/o evidente picnosis (flecha azul). Se observan zonas de congestión y hemorragia (flecha roja). Barra = 100  $\mu$ m.

Este toxintipo se encuentra normalmente en la microbiota de mamíferos. La principal toxina secretada por *C. perfringens* tipo E es la ITX (Sakurai et al., 2009). La toxina ITX de *Clostridium perfringens* está compuesta de dos componentes, Ia e Ib. La protoxina Ib es activada por proteólisis en el intestino, lo que da lugar a la unión con el receptor de Lipoproteína estimulada por lipólisis (LSR), así como el antígeno CD44. Una vez internalizada Ib forma poros funcionales en la membrana celular, lo que permite la internalización de Ia, proteína con función enzimática. Al igual que Ib, Ia se secreta como protoxina que necesita ser activada por proteólisis. La acción enzimática de Ia produce la despolimerización de los filamentos de actina, por lo que el citoesqueleto de los enterocitos se ve afectado. El efecto tóxico se traduce en desorganización inter e intracelular y aumento de la permeabilidad (Navarro et al., 2018). La desorganización celular produce inhibición de endocitosis (atrofia funcional), inhibición de la migración, activación de leucocitos e inhibición de la contracción del músculo liso (Mada et al., 2023). Aunque hay una clara asociación de la toxina en la patogenia en estudios in vitro, la toxemia in vivo ha mostrado resultados controversiales (Navarro et al., 2018).

*C. perfringens* E produce enteritis en bovinos, ovinos y conejos. En estos últimos hospedadores es

probable que la enteritis sea causada por una toxina similar a ITX, producida por *C. spiroforme*. (Uzal et al., 2018). La semiótica incluye diarrea y pérdida de la condición corporal. En ocasiones puede ocasionar muerte súbita en becerros del tipo cárnico. Algunas lesiones encontradas en la necropsia incluyen la presencia de hemorragias, tanto en la mucosa como en la serosa del ciego. El íleon distal y el colon proximal pueden verse también afectados. Al interior del íleon y colon afectados puede hallarse exudado catarral. Histológicamente se observa necrosis del epitelio superficial y hemorragia de la submucosa (Figura 6) (Redondo, 2015).



- Figura 6. Enteritis en becerro por *C. perfringens* tipo E. A nivel de mucosa se puede observar atrofia con edema y congestión de las vellosidades, así como zonas de necrosis con daño a nivel de criptas, la cual se extiende hasta la membrana basal (flecha negra), así como zona de edema y congestión a nivel de submucosa (flecha azul).

### ***Enterotoxemia por C. perfringens F***

Se ha descrito que algunas cepas del toxinotipo *C. perfringens* E tienen relación genética y antigénica el toxinotipo *C. perfringens* F (Mada et al., 2023). La enteritis producida por *C. perfringens* tipo F es debida fundamentalmente a la toxina CPE (Uzal et al., 2018). La acción de esta toxina, así como sus receptores fue descrita anteriormente. Este toxinotipo es común en diferentes especies animales y forma parte de la microbiota intestinal en animales adultos (Shrestha et al., 2018). Se ha reportado colitis en caprinos y enteritis de leve a moderada en cerdos, equinos y perros. Estas presentaciones clínicas no son letales, sin embargo, la asociación directa con CPE en animales con diarrea no ha sido concluyente (Uzal et al., 2018). Por otro lado, en seres humanos se trata de la segunda causa más común de intoxicación por consumo de alimentos contaminados (Shrestha et al., 2018). El problema de salud pública tiene una alta correlación con el consumo de carne mal cocida, ya que al albergar esporas de *C. perfringens* F estas pueden germinar al interior del intestino. Aunado a ello, el consumo directo de alimentos de origen animal contaminados con estos bacilos promueve su esporulación en el intestino. Una vez que se forma la espora, se libera la toxina a nivel intestinal (Mehdizadeh Gohari et al., 2023). También se ha observado una colonización aumentada de *C. perfringens* tipo F en pacientes que han recibido antibioterapia prolongada. La manifestación clínica se observa como diarrea y malestar generalizado, usualmente con buen pronóstico de mejoría. En casos excepcionales, se ha reportado enterotoxemia relacionada con constipación o medicación

utilizando fármacos que producen constipación (Shrestha et al., 2018).

### ***Enterotoxemia por C. perfringens G***

La principal toxina producida por *C. perfringens G* es NetB, al igual que muchas toxinas secretadas por *C. perfringens* esta proviene de un plásmido conjugativo (Lee & Lillehoj, 2021). La investigación sobre esta toxina ha confirmado su participación directa en la enteritis necrótica en aves. NetB es una toxina formadora de poros cuyo receptor celular no ha sido reconocido. La toxina forma poros en la membrana de los enterocitos, lo que permite la entrada de iones como sodio, cloro y calcio, lo que puede conducir a la lisis osmótica y necrosis. El efecto observado es la destrucción del epitelio intestinal (Navarro et al., 2018). Por otro lado, se ha reconocido que *C. perfringens G* que no presentan NetB ha sido aislado de casos de enteritis necrótica en pollos de engorda, por lo que se cree que existen otros factores de virulencia que pueden trabajar en sinergia para producir lesiones características (entre ellos CPA, hialuronidasas, sialidasas, entre otros) (Lee & Lillehoj, 2021).

En aves comerciales la causa principal de enteritis necrótica son los coccidios del género *Eimeria* spp. por lo que la infección con *C. perfringens G* forma parte del diagnóstico diferencial (Uzal et al., 2018). Por otro lado, se han reportado algunos casos aislados de enteritis necrótica en aves producida por *C. perfringens A*. Este hallazgo supondría que CPA podría estar involucrada en la patogenia de la enteritis necrótica por *C. perfringens* en aves (Mohiuddin et al., 2023). La presentación clínica se observa en aves de engorda (pollo, pavos) de dos a seis semanas de edad, aunque se han reportado casos en aves de mayor edad. De igual forma, se ha reportado enteritis necrótica en especies de aves silvestres (Rood et al., 2018). La presentación clínica puede ser aguda, subaguda o crónica. La semiótica en los casos agudos incluye diarrea, anorexia, resistencia a moverse, entre otros. En algunos casos, la mortalidad es elevada sin que aparezcan signos clínicos. En la presentación subaguda, el signo característico es la pérdida progresiva de la condición corporal y como consecuencia la afectación en la ganancia de peso. Las lesiones de la enteritis necrótica de las aves no son muy diferentes a la enteritis producida por *C. perfringens* en mamíferos. En los casos agudos el íleon y yeyuno se encuentran afectados, sin embargo, todo el intestino delgado puede mostrar lesiones, e incluso alcanzar el ciego. En pollos de engorda el intestino se muestra distendido por presencia de gas, mientras que la serosa se observa hemorrágica. En la mucosa es común encontrar exudado fibronecrótico de color café oscuro, así como una ulceración del epitelio (Mohiuddin et al., 2023). No es común observar hemorragia en la luz intestinal. En los casos subagudos o crónicos las lesiones son similares, se observa una marcada inflamación y engrosamiento de la serosa intestinal. En algunos casos el hígado puede verse afectado (colangiohepatitis), encontrando el tejido friable y pálido con múltiples focos necróticos. Microscópicamente se puede observar necrosis difusa multifocal en la mucosa. La infiltración de heterófilos en la submucosa pone en evidencia un proceso inflamatorio. Asimismo, se presentan bacilos Gram positivos mezclados con tejido necrótico y en descamación (Caserta et al., 2011).

## **CONCLUSIONES**

Los diferentes toxinotipos de *Clostridium perfringens* aparecen en las distintas presentaciones de la enfermedad y provocan daño a nivel intestinal. Algunas toxinas son absorbidas en el torrente sanguíneo y causan daño a otros tejidos, como lo es el sistema nervioso central, aparato urinario o músculo. Aunque el daño puede observarse como una mortalidad elevada en animales domésticos, existen factores que favorecen el crecimiento exponencial de estas bacterias en el intestino (tales como el cambio de dieta en algunos rumiantes). El reconocimiento de las lesiones en los diversos

tejidos, tanto macroscópicamente como microscópicamente constituye el paso fundamental para establecer el diagnóstico.

## REFERENCIAS

- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Elbestawy, A. R., El-Shall, N. A., Saad, A. M., Salem, H. M., El-Tahan, A. M., Khafaga, A. F., Taha, A. E., AbuQamar, S. F., & El-Tarabily, K. A. (2022). Necrotic enteritis in broiler chickens: disease characteristics and prevention using organic antibiotic alternatives – a comprehensive review. *Poultry Science*, *101*(2), 101590. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101590>
- Ali Nasir, A., Younus, M., Rashid, A., Abdul Khaliq, S., Khan, E., Shah, S. H., Aslam, A., Ghumman, M. A., & Joiya, M. H. (2015). Clinico-pathological findings of *Clostridium perfringens* type D enterotoxaemia in goats and its hemolytic activity in different erythrocytes. *Iranian Journal of Veterinary Research*, *16*(1), 94-99.
- Bokori-Brown, M., Savva, C. G., Fernandes da Costa, S. P., Naylor, C. E., Basak, A. K., & Titball, R. W. (2011). Molecular basis of toxicity of *Clostridium perfringens* epsilon toxin. *The FEBS journal*, *278*(23), 4589-4601.
- Caserta, J. A., Robertson, S. L., Saputo, J., Shrestha, A., McClane, B. A., & Uzal, F. A. (2011). Development and application of a mouse intestinal loop model to study the in vivo action of *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Infection and Immunity*, *79*(8), 3020-3027. <https://doi.org/10.1128/IAI.01342-10>
- Cooper, K. K., & Songer, J. G. (2010). Virulence of *Clostridium perfringens* in an experimental model of poultry necrotic enteritis. *Veterinary Microbiology*, *142*(3-4), 323-328. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.09.065>
- Cooper, K. K., Songer, J. G., & Uzal, F. A. (2013). Diagnosing clostridial enteric disease in poultry. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *25*(3), 314-327. <https://doi.org/10.1177/1040638713483468>
- Eroksuz, Y., Otlu, B., Calicioglu, M., Eroksuz, H., Akdeniz Incili, C., Karabulut, B., & Abayli, H. (2018). Enterotoxemia caused by *Clostridium perfringens* type E in a Calf. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, *24*(6), 905-908. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.19952>
- Ferreira, M., Moreira, G., Cunha, C., Mendonça, M., Salvarani, F., Moreira, Â., & Conceição, F. (2016). Recombinant alpha, beta, and epsilon toxins of *Clostridium perfringens*: production strategies and applications as veterinary vaccines. *Toxins*, *8*(11), 340. <https://doi.org/10.3390/toxins8110340>
- Finnie, J. W., & Uzal, F. A. (2024). Neurotoxicity of *Clostridium perfringens* type D enterotoxemia. In *Natural Molecules in neuroprotection and Neurotoxicity* Chapter 31. M. R. Oliveira (Ed.), (pp. 701-717). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-23763-8.00066-X>
- Forti, K., Ferroni, L., Pellegrini, M., Cruciani, D., De Giuseppe, A., Crotti, S., Papa, P., Maresca, C., Severi, G., Marenzoni, M. L., & Cagiola, M. (2020). Molecular characterization of *Clostridium perfringens* strains isolated in Italy. *Toxins*, *12*(10), 650. <https://doi.org/10.3390/toxins12100650>
- Freedman, J. C., McClane, B. A., & Uzal, F. A. (2016). New insights into *Clostridium perfringens* epsilon toxin activation and action on the brain during enterotoxemia. *Anaerobe*, *41*, 27-31. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.06.006>
- Gangwar, N. K., Pawaiya, R. V. S., Gururaj, K., Singh, D. D., Andani, D., Kumar, A., Sharma, D. K.,

- Rao, A. R., & Rai, A. (2021). Chemotactic factor inducing Interleukin-8 (IL8) gene is transcriptionally elevated in experimental enterotoxaemia in goats caused by *Clostridium perfringens* type D. *Heliyon*, 7(7), e07568. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07568>
- Garcia, J. P., Beingesser, J., Fisher, D. J., Sayeed, S., McClane, B. A., Posthaus, H., & Uzal, F. A. (2012). The effect of *Clostridium perfringens* type C strain CN3685 and its isogenic beta toxin null mutant in goats. *Veterinary Microbiology*, 157(3-4), 412-419. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.01.005>
- Grenda, T., Jarosz, A., Sapała, M., Grenda, A., Patyra, E., & Kwiatek, K. (2023). *Clostridium perfringens*—Opportunistic foodborne pathogen, Its diversity and epidemiological significance. *Pathogens*, 12(6), 1-12. <https://doi.org/10.3390/pathogens12060768>
- Hassan, K. A., Elbourne, L. D. H., Tetu, S. G., Melville, S. B., Rood, J. I., & Paulsen, I. T. (2015). Genomic analyses of *Clostridium perfringens* isolates from five toxinotypes. *Research in Microbiology*, 166(4), 255-263. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.10.003>
- He, X., Ye, G., Xu, S., Chen, X., He, X., & Gong, Z. (2023). Effects of three different probiotics of Tibetan sheep origin and their complex probiotics on intestinal damage, immunity, and immune signaling pathways of mice infected with *Clostridium perfringens* type C. *Frontiers in Microbiology*, 14(April), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1177232>
- Jayaraman, S., Thangavel, G., Kurian, H., Mani, R., Mukkalil, R., & Chirakkal, H. (2013). *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Poultry Science*, 92(2), 370-374. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02528>
- Keyburn, A. L., Bannam, T. L., Moore, R. J., & Rood, J. I. (2010). NetB, a Pore-forming toxin from necrotic enteritis strains of *Clostridium perfringens*. *Toxins*, 2(7), 1913-1927. <https://doi.org/10.3390/toxins2071913>
- Kiu, R., & Hall, L. J. (2018). An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerging Microbes and Infections*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0144-8>
- Kusiluka, L., & Kambarage, D. (1996). *Diseases of small ruminants a handbook: Common diseases of sheep and goats in Sub-Saharan Africa*. VETAID. <https://assets.publishing.service.gov.uk/media/57a08dbfed915d3cfd001bba/R5499-Diseases-of-Small-Ruminants.pdf>
- Layana, J. E., Fernandez Miyakawa, M. E., & Uzal, F. A. (2006). Evaluation of different fluids for detection of *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin in sheep with experimental enterotoxemia. *Anaerobe*, 12(4), 204-206. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2006.05.001>
- Lee, K.-W., & Lillehoj, H. S. (2021). Role of *Clostridium perfringens* necrotic enteritis B-like toxin in disease pathogenesis. *Vaccines*, 10(1), 61. <https://doi.org/10.3390/vaccines10010061>
- Liu, Z., Mou, S., Li, L., Chen, Q., Yang, R., Guo, S., Jin, Y., Liu, L., Li, T., Chen, H., & Wang, X. (2024). The barrier disruption and pyroptosis of intestinal epithelial cells caused by perfringolysin O (PFO) from *Clostridium perfringens*. *Cells*, 13(13), 1140. <https://doi.org/10.3390/cells13131140>
- Losada-Eaton, D. M., & Fernandez-Miyakawa, M. E. (2010). *Clostridium perfringens* epsilon toxin inhibits the gastrointestinal transit in mice. *Research in Veterinary Science*, 89(3), 404-408. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.04.006>
- Mada, T., Goto, Y., Kumagai, M., Sakai, H., Kanamori, H., & Takamatsu, D. (2023). A calf with hind limb paralysis and dysstasia and a genome sequence analysis of an isolated *Clostridium perfringens* toxinotype E strain. *Journal of Veterinary Medical Science*, 85(3), 279-289. <https://doi.org/10.1292/jvms.22-0432>
- Mehdizadeh G.I., A. Navarro, M., Li, J., Shrestha, A., Uzal, F., & A. McClane, B. (2021). Pathogenicity

- and virulence of *Clostridium perfringens*. *Virulence*, 12(1), 723-753. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1886777>
- Mehdizadeh G.I., Li, J., Navarro, M. A., Mendonça, F. S., Uzal, F. A., & McClane, B. A. (2023). Identification of orphan histidine kinases that impact sporulation and enterotoxin production by *Clostridium perfringens* type F strain SM101 in a pathophysiologically-relevant ex vivo mouse intestinal contents model. *PLOS Pathogens*, 19(6), e1011429. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011429>
- Mohiuddin, M., Song, Z., Liao, S., Qi, N., Li, J., Lv, M., Lin, X., Cai, H., Hu, J., Liu, S., Zhang, J., Gu, Y., & Sun, M. (2023). Animal model studies, antibiotic resistance and toxin gene profile of NE reproducing *Clostridium perfringens* type A and type G strains isolated from commercial poultry farms in China. *Microorganisms*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030622>
- Morris, W. E., & Fernández-Miyakawa, M. E. (2009). Toxinas de *Clostridium perfringens*. *Revista Argentina de Microbiología*, 41(4), 251-260.
- Muneeb, M., Khan, E. U., Ahmad, S., Naveed, S., Ali, M., Qazi, M. A., Ahmad, T., & Abdollahi, M. R. (2024). An updated review on alternative strategies to antibiotics against necrotic enteritis in commercial broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, 1–50.
- Navarro, M. A., McClane, B. A., & Uzal, F. A. (2018). Mechanisms of action and cell death associated with *Clostridium perfringens* toxins. *Toxins*, 10(5), 1–21. <https://doi.org/10.3390/toxins10050212>
- Ou, L., Ye, B., Sun, M., Qi, N., Li, J., Lv, M., Lin, X., Cai, H., Hu, J., Song, Y., Chen, X., Zhu, Y., Yin, L., Zhang, J., Liao, S., & Zhang, H. (2024). Mechanisms of intestinal epithelial cell damage by *Clostridium perfringens*. *Anaerobe*, 87, 102856. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2024.102856>
- Pawaiya, R. S., Gururaj, K., Gangwar, N. K., Singh, D. D., Kumar, R., & Kumar, A. (2020). The challenges of diagnosis and control of enterotoxaemia caused by *Clostridium perfringens* in Small Ruminants. *Advances in Microbiology*, 10(05), 238-273. <https://doi.org/10.4236/aim.2020.105019>
- Redondo, L. M. (2015). *Rol de las toxinas binarias en las enfermedades intestinales causadas por clostridios enterotóxicos. 51*. [http://repositorioub.sisbi.uba.ar/gsd/collect/posgraafa/index/assoc/HWA\\_1143.dir/1143.PDF](http://repositorioub.sisbi.uba.ar/gsd/collect/posgraafa/index/assoc/HWA_1143.dir/1143.PDF)
- Rood, J. I., Adams, V., Lacey, J., Lyras, D., McClane, B. A., Melville, S. B., Moore, R. J., Popoff, M. R., Sarker, M. R., Songer, J. G., Uzal, F. A., & Van Immerseel, F. (2018). Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme. *Anaerobe*, 53, 5-10. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.04.011>
- Sakurai, J., Nagahama, M., Oda, M., Tsuge, H., & Kobayashi, K. (2009). *Clostridium perfringens* iota-toxin: structure and function. *Toxins*, 1(2), 208-228.
- Salvarani, F. M., Faccin, M., Freitas, N. F. D. Q. R., de Matos, M. R., Garcia, E. C., Pagliosa, G. M., & de Marco Viott, A. (2019). Outbreak of *Clostridium perfringens* type D enterotoxaemia in sheep. *Veterinary Medicine*, 40(6), 2593-2602.
- Seike, S., Takehara, M., Kobayashi, K., & Nagahama, M. (2022). Critical residues of *Clostridium perfringens* delta-toxin for oligomerization and receptor binding. *BPB Reports*, 5(3), 66-69. [https://doi.org/10.1248/bpbreports.5.3\\_66](https://doi.org/10.1248/bpbreports.5.3_66)
- Serroni, A., Colabella, C., Cruciani, D., Ciullo, M., Crotti, S., Papa, P., Di Paolo, A., Gobbi, M., Forti, K., Pellegrini, M., Salini, R., D'Avino, N., Cagiola, M., Pezzotti, G., & De Giuseppe, A. (2022). Identification and characterization of *Clostridium perfringens* atypical CPB2 Toxin in cell cultures and field samples using monoclonal antibodies. *Toxins*, 14(11), 796. <https://doi.org/10.3390/toxins14110796>
- Shrestha, A., Uzal, F. A., & McClane, B. A. (2018). Enterotoxic clostridia: *Clostridium perfringens*

- enteric diseases. *Microbiology Spectrum*, 6(5), 139-148. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0003-2017>
- Singh, A., Rawat, P., Choudhury, D., & Dixit, A. (2022). Immunogenic and neutralization efficacy of recombinant perfringolysin O of *Clostridium perfringens* and its C-terminal receptor-binding domain in a murine model. *Immunologic Research*, 70(2), 240-255. <https://doi.org/10.1007/s12026-021-09254-9>
- Uzal, F. A. (2004). Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. *Anaerobe*, 10(2), 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2003.08.005>
- Uzal, F. A. (2010). Clostridium Perfringens toxins involved in mammalian veterinary diseases. *Open Toxinology Journal*, 2(1), 24-42. <https://doi.org/10.2174/1875414701003010024>
- Uzal, F. A., Giannitti, F., & Asin, J. (2022). Yellow lamb disease (*Clostridium perfringens* Type A enterotoxemia of sheep): A review. *Animals*, 12(12), 1-9. <https://doi.org/10.3390/ani12121590>
- Uzal, F. A., Navarro, M. A., Li, J., Freedman, J. C., Shrestha, A., & McClane, B. A. (2018). Comparative pathogenesis of enteric clostridial infections in humans and animals. *Anaerobe*, 53, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.06.002>
- Uzal, F. A., & Songer, J. G. (2008). Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(3), 253-265. <https://doi.org/10.1177/104063870802000301>
- Wan, W., Li, Y., Wang, J., Jin, Z., Xin, W., Kang, L., Wang, J., Li, X., Cao, Y., Yang, H., Wang, J., & Gao, S. (2023). PLGA nanoparticle-based dissolving microneedle vaccine of *Clostridium perfringens*  $\epsilon$  toxin. *Toxins*, 15(7). <https://doi.org/10.3390/toxins15070461>
- Zaragoza, N. E., Orellana, C. A., Moonen, G. A., Moutafis, G., & Marcellin, E. (2019). Vaccine production to protect animals against pathogenic clostridia. *Toxins*, 11(9), 1-29. <https://doi.org/10.3390/toxins11090525>