



研究简报 RESEARCH NOTES

# 圈养野生动物源产气荚膜梭菌 分离株的 MLST 分型及毒力基因分析

徐春忠<sup>1</sup>, 徐 锋<sup>2</sup>, 王 建<sup>2\*</sup>

(1. 上海野生动物园, 上海 201399;  
2. 上海市动物疫病预防控制中心, 上海 201103)

稿件运行过程

收稿日期: 2025-01-14  
修回日期: 2025-02-06



关键词: 动物园;  
产气荚膜梭菌;  
多位点序列分型;  
致病性

Keywords: Zoo;  
*Clostridium perfringens*;  
Multilocus sequence typing;  
Pathogenicity

中图分类号: Q933

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2025)-03-0674-07

DOI: 10.12375/ysdwxb.20250322

摘 要

为了解上海地区动物园流行的产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)的ST型,探讨其可能的遗传进化关系和潜在致病性,通过细菌基因组框架图测序对10株产气荚膜梭菌进行回顾性研究,对菌株MLST分型和致病性进行分析。结果显示:10株菌均为A型产气荚膜梭菌,分属于6个新的ST型,并携带有大量的毒力基因,包括 $plc$ ( $\alpha$ 毒素)、 $pfoA$ ( $\theta$ 毒素)等16种主要的毒力因子,以及 $hlyIII$ 、 $hlyB$ 等22种可能来源于其他菌属的毒力基因。研究发现,动物园的产气荚膜梭菌以A型为主,但存在遗传多样性、宿主多样性等特点,同时携带大量的毒力因子对人和动物均存在较大的风险。

## MLST Typing and Virulence Gene Analysis of *Clostridium perfringens* Strains Isolated from Captive Wild Animals

XU Chunzhong<sup>1</sup>, XU Feng<sup>2</sup>, WANG Jian<sup>2\*</sup>

(1. Shanghai Wild Animal Park, Shanghai 201399, China;  
2. Shanghai Animal Disease Control Center, Shanghai 201103, China)

**Abstract:** Aim to understand the ST types of *Clostridium perfringens* prevalent in zoos in Shanghai and explore its possible genetic evolutionary relationship and potential pathogenicity, a retrospective study was conducted on 10 strains of *C. perfringens* using bacterial genome framework sequencing. MLST and pathogenicity of the strains were analyzed.

基金项目: 上海市东方英才计划领军项目(LJ2023079)

第一作者简介: 徐春忠(1970—),男,高级工程师;主要从事野生动物疾病防控与诊治工作。E-mail: xucz70@126.com

\* 通信作者: 王建, E-mail: jianwhlj@163.com

The results showed that all 10 strains were type A, belonging to six new ST types, and carrying a large number of virulence genes, including 16 major virulence factors such as *plc* ( $\alpha$  toxin) and *pfoA* ( $\theta$  toxin), as well as 22 virulence genes such as *hlyIII* and *hlyB* that may have originated from other bacterial genera. This study has found that the main type of *C. perfringens* in zoos was type A, but it has characteristics such as genetic diversity and host diversity. At the same time, it carries a large amount of virulence factors and poses a significant risk to both humans and animals.

产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)属于厚壁菌门(Firmicutes)梭菌纲(Clostridia),是一种专性厌氧的革兰氏阳性杆菌,广泛存在于土壤、污水、食物、动物及人的正常肠道微生物群中,当机体抵抗力下降、环境适宜其大量生长繁殖以及毒素产生等情况下可致病。该菌可分泌20种以上毒素或酶,能够引起气性坏疽、坏死性肠炎、动物肠毒素血症、人类食物中毒和抗生素相关性腹泻等<sup>[1]</sup>,根据其产生的4种主要外毒素( $\alpha$ 毒素、 $\beta$ 毒素、 $\epsilon$ 毒素和 $\iota$ 毒素),分为A、B、C、D和E五种类型<sup>[2]</sup>,2018年Rood *et al.*<sup>[3]</sup>提出将*cpe*毒素和*netB*毒素纳入分型,从A型中又分出了F型和G型。

多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)从1998年提出至今已经应用于许多细菌病原体,它将高通量测序和生物信息学与已建立的种群遗传学技术相结合,是一种可转移、可重复且可扩展的分型系统,可以反映细菌病原体的种群和进化生物学<sup>[4]</sup>,通过鉴定共享的STs,可以评估不同宿主之间可能的传播途径,对于暴发调查、流行病学监测和控制措施评估至关重要。MLST目前仍无法完全替代传统的产气荚膜梭菌毒素分型,但Abdel-Glil *et al.*<sup>[5]</sup>回顾性的感染暴发调查已证实,建立一个用于产气荚膜梭菌基因分型的数据库,可用于全球化和标准化的流行病学研究。

2018—2022年,上海野生动物园对上海地区多个动物园圈养的东北虎(*Panthera tigris altaica*)、白化孟加拉虎(*P. t. tigris* (white))、猎豹(*Acinonyx jubatus*)、狮(*Panthera leo*)和大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)的粪便样本开展产气荚膜梭菌的病原学调查,发现除大熊猫的粪便全部阴性外,其余样本中的阳性率达71.11%;此外在黑天鹅(*Cygnus atratus*)、大羚羊(*Tragelaphus oryx*)和中华扭角羚(*Budorcas tibetana*)等动物中也检测到感染病例。为了评估动物

园内产气荚膜梭菌可能的传播途径和致病性,本研究于2024年11月,对上海野生动物园保存的部分圈养野生动物产气荚膜梭菌分离菌株进一步开展研究,拟通过对菌株ST型和毒力基因的分析,为产气荚膜梭菌感染的治疗和防控提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验菌株

10株产气荚膜梭菌菌株,于2018年—2022年分离自上海地区动物园东北虎等圈养野生动物的粪便样本,其中7株来源于健康动物,包括猎豹2株、东北虎3株和白化孟加拉虎2株,其余3株来源于发病动物,包括黑天鹅、大羚羊和中华扭角羚。分离菌株经VITEK MS鉴定、16S rRNA基因比对及毒素基因的PCR检测确认为A型产气荚膜梭菌。

### 1.2 基因组测序

将待检菌株划线接种在哥伦比亚血平板,42℃厌氧培养24 h后,用生理盐水将菌落从哥伦比亚血平板上洗脱至15 mL离心管形成菌悬液,将菌悬液送生工生物工程(上海)股份有限公司进行细菌基因组框架测序。

### 1.3 多位点序列分型

从预测到的基因组中提取8个管家基因序列(*colA*、*groEL*、*sodA*、*plc*、*gyrB*、*sigK*、*pgk*和*nadA*)提交至PubMLST数据库([https://pubmlst.org/bigsub/db=pubmlst\\_cperfringens\\_seqdef](https://pubmlst.org/bigsub/db=pubmlst_cperfringens_seqdef)),获得10株细菌的ST型。通过在线的BURST和GrapeTree软件对获得的ST型进行聚类分析和最小进化树的构建。

### 1.4 毒力基因分析

使用BLAST将基因蛋白序列与VFDB数据库比对,结合基因及其相对应的毒力因子功能注释信息得到毒力基因的注释结果。

## 2 结果

### 2.1 MLST分型结果

经与 PubMLST 数据库比对, 10 株菌均无匹

配的 ST 型, 在 PubMLST 数据库提交等位基因序列后, 获得 11 个新的等位基因号和 6 个新的 ST 型(表 1)。

表 1 分离自圈养野生动物的 10 株产气荚膜梭菌的 ST 分型结果

Table 1 ST typing results of 10 strains of *Clostridium perfringens* isolated from captive wild animals

菌株 Strain	样本来源 Sample source	健康状况 Health status	等位基因 Allele								ST 型 ST type
			<i>colA</i>	<i>groEL</i>	<i>sodA</i>	<i>plc</i>	<i>gyrB</i>	<i>sigK</i>	<i>pgk</i>	<i>nadA</i>	
QT26-2018	猎豹 <i>Acinonyx jubatus</i>	健康	<i>212</i>	<i>184</i>	<i>196</i>	<i>236</i>	<i>119</i>	2	11	<i>204</i>	<i>872</i>
QT27-2018	猎豹 <i>Acinonyx jubatus</i>	健康	<i>209</i>	58	3	235	3	2	61	13	<i>874</i>
QT22-2018	白化孟加拉虎 <i>Panthera tigris tigris</i> (white)	健康	<i>209</i>	58	3	235	3	2	61	13	<i>874</i>
QT21-2018	白化孟加拉虎 <i>Panthera tigris tigris</i> (white)	健康	<i>209</i>	58	3	235	3	2	61	13	<i>874</i>
QT11-2018	东北虎 <i>Panthera tigris altaica</i>	健康	<i>209</i>	58	3	235	3	2	61	13	<i>874</i>
QT23-2018	东北虎 <i>Panthera tigris altaica</i>	健康	<i>209</i>	58	3	235	3	2	61	13	<i>874</i>
QT24-2018	东北虎 <i>Panthera tigris altaica</i>	健康	74	82	32	150	1	57	3	88	<i>883</i>
QT6-2018	黑天鹅 <i>Cygnus atratus</i>	发病	<i>211</i>	1	46	1	3	2	1	1	<i>875</i>
QT3-2022	大羚羊 <i>Tragelaphus oryx</i>	发病	205	3	<i>195</i>	105	8	5	<i>87</i>	13	<i>884</i>
QT4-2022	中华扭角羚 <i>Budorcas tibetana</i>	发病	66	58	1	4	1	41	4	1	<i>885</i>

注: 斜体加深为新获得的等位基因号和 ST 型。

Note: The italics are deepened to indicate newly obtained alleles and ST types.

### 2.2 MLST 聚类分析结果

在 PubMLST 数据库中分别搜索 ST875、ST885 匹配的 ST 型(至少 1 个等位基因匹配), 运用在线 BURST(n-2) 软件进行聚类分析, 结果 ST872、ST874、ST883 和 ST884 均为独体, ST875 和 ST885 分别处于 ST495—ST21 分支和 ST130 分支(图 1)。

### 2.3 动物源产气荚膜梭菌的亲缘关系

运用在线 GrapeTree 软件对 PubMLST 数据库中 279 条动物源的产气荚膜梭菌 MLST 记录构建最小生成树(图 2)。基于 MSTreeV2 算法, 根据中心节点分簇(Cluster)将最小生成树分为 2 个簇, Cluster I 以 ST479 为节点, ST883 处于节点 ST479 下的 ST305—ST485 分支, Cluster II 以 ST21 为节点, ST872、ST874、ST884、ST875 和 ST885 五个型处于 ST21 节点下, 其

中 ST872 和 ST874 与 ST21 的距离最近, ST884 和 ST875 均处于 ST190 分支, ST885 与 ST21 距离较远, 处于 ST408—ST333—ST372 分支。

### 2.4 毒力基因

全基因组同 VFDB 数据库比对, 发现 16 种主要毒力基因, 包括 3 种黏附素(*fbpA*、*groEL*)、3 种外毒素(*plc*、*pfoA* 和 *cpb2*) 和 10 种胞外酶(*colA*、*nanH* 和 *nanI* 等), 未发现 *cpb*、*etx*、*iap*、*ibp*、*cpe* 和 *netB* 六种毒素基因(表 2); 此外还发现 22 种可能来源于其他细菌的毒力基因, 包括 *VirR/VirS* 双组分系统(*VirR*、*VirS*)、肠杆菌素(*entA*、*entB*、*entC* 和 *entD*)、溶血素(*hly III*、*hlyB*、*hlyC* 和 *hlyD*)、IV 型菌毛(*pilA1*、*pilA2*、*pilB*、*pilB2*、*pilC*、*pilC2*、*pilD*、*pilM*、*pilN* 和 *pilT*)、*clpP* 和 *fbpB*。



表2 圈养野生动物源产气荚膜梭菌菌株的主要毒力基因及VFDB数据库的相关注释

Table 2 Major virulence genes of *Clostridium perfringens* strains from captive wild animals and related annotations in the VFDB database

类别 Category	基因 Gene	阳性率 / % Positive rate	功能 Function
黏附素 Adhesin	<i>fbpA</i>	70	与纤维连接蛋白(Fn)结合,在肠道定植中起作用
	<i>fbpB</i>	20	
	<i>groEL</i>	100	参与肠道定植的热休克蛋白,许多细菌的 <i>groEL</i> 已被证明参与各种靶细胞或组织的黏附或侵袭
外毒素 Exotoxin	<i>plc</i>	100	$\alpha$ 毒素,一种分泌型锌金属酶,具有致死、溶血和皮肤坏死活性以及磷脂酶C和鞘磷脂酶活性,是气性坏疽发展的主要致病因素
	<i>pfoA</i>	90	$\theta$ 毒素,胆固醇依赖性溶血素,属于 $\beta$ 成孔毒素超家族。毒素以可溶性单体的形式产生,通过其各自的受体与细胞膜结合,并寡聚为成孔复合体
	<i>cpb2</i>	70	$\beta_2$ 毒素,致病机制未知,与 $\beta$ 毒素的序列(仅15%同一性)或任何其他已知的蛋白质序列没有显著同源性,但显示出与 $\beta$ 毒素相似的生物活性
胞外酶 Exoenzyme	<i>cloSI</i>	100	$\alpha$ -梭菌蛋白酶,一种半胱氨酸内肽酶,对 Arg-Xaa 肽基键具有严格的特异性,连接体已被证明具有分子内伴侣的功能
	<i>colA</i>	100	$\kappa$ 毒素,一种胶原酶,主动降解宿主组织,以帮助其在感染宿主中生长、存活和传播,或通过促进其扩散来增强其他毒素
	<i>nagH</i>	100	$\mu$ 毒素,一种透明质酸酶,促进透明质酸和硫酸软骨素等多糖的降解,并帮助生物体扩散到更深的组织中,被认为是一种扩散因子,可以降低结缔组织中基质的黏度,透明质酸酶类C末端序列的变化可能代表了它们的底物
	<i>nagI</i>	100	
	<i>nagJ</i>	90	
	<i>nagK</i>	80	
	<i>nagL</i>	70	
	<i>nanH</i>	90	<i>nanI</i> 和 <i>nanJ</i> 是分泌型唾液酸酶而 <i>nanH</i> 是细胞质唾液酸酶,唾液酸酶从碳水化合物聚合物中切割末端唾液酸残基,使其成为产生唾液酸酶的细菌的营养物质,可能会增加细菌对宿主细胞的附着或毒素结合
<i>nanI</i>	90		
<i>nanJ</i>	80		

地区野生动物源产气荚膜梭菌的流行病学调查提供了数据支持。

产气荚膜梭菌是一种经食源性传播的人兽共患病原体,对人和动物主要威胁是气性坏疽和食物中毒。目前国内的研究对象主要集中在人的临床病例、经济动物以及环境样本,对野生动物多局限于个别突发的病例,从病例的诊断结果看,以A型为主<sup>[6-8]</sup>,也存在个别B型<sup>[9]</sup>和C型<sup>[10]</sup>。本研究获得的基因序列与VFDB数据库比对,发现6个毒素基因中仅存在*plc*基因( $\alpha$ 毒素基因),同A型产气荚膜梭菌的鉴定结果一致,表明通过对全基因序列的分析可以对产气荚膜梭菌进行毒素分型,同时 $\alpha$ 毒素基因呈高度保守和较好的免疫原性<sup>[11]</sup>,为野生动物临床感染产气荚膜梭菌提供了治疗和免疫的思路。

目前, PubMLST数据库中产气荚膜梭菌分离株的记录多来源于人的临床,动物来源仅占22.9%,且以家畜家禽为主,缺少野生动物源产气荚膜梭菌

的信息,从10株产气荚膜梭菌的MLST分型结果看,均为新的ST型,为PubMLST数据库中野生动物源产气荚膜梭菌的准确分类作了有力的补充。从BURST软件聚类分析结果看,ST872、ST874、ST883和ST884为独体,同其他STs亲缘性较远,表明野生动物源产气荚膜梭菌菌株的ST型可能存在野生动物特有的分支,目前通过MLST分型对野生动物分离株进行遗传进化分析、暴发调查等研究存在一定的局限性。通过对PubMLST数据库中所有动物源产气荚膜梭菌的MLST最小生成树的构建发现,本研究中90%(9/10)的菌株处于ST21节点下,表明ST21可能为野生动物分离株中优势的ST型, PubMLST数据库中ST21型近几年的菌株均来源于日本,分离自门诊和住院病人的粪便样本(携带*netB*基因)和奶牛的小肠内容物,在我国野外的鸿雁(*Anser cygnoides*)<sup>[12]</sup>、鸭子的泄殖腔<sup>[13]</sup>和鸡肉制品<sup>[14]</sup>等样本中也发现存在ST21型,说明ST21型正呈流行趋势,并表现为宿主

多样性的特点,涉及到人、奶牛、家禽和野生鸟类等,甚至动物产品,需要重点关注;Zhong *et al.*<sup>[15]</sup>认为ST479型是动物中的主要类型,从MLST最小生成树可以看出,ST305为ST479节点下的主要分支,ST883同ST305分支下的菌株亲缘关系均较近,菌株多来源于猪、奶牛、绵羊和鸡等家畜家禽,而ST883型分离株QT24-2018来源于健康东北虎粪便,因而认为该菌株来源于肉类食物,同ST479尤其是ST305在遗传进化上存在相关性。

通过对毒力基因的比对分析发现,所有菌株均携带大量毒力基因,发病动物与健康动物的分离菌株之间无明显差异。*fbpA*和*fbpB*基因对宿主的侵袭和感染起重要作用,在纤维连接蛋白(Fn)存在的情况下,*fbpA*和*fbpB*基因能够牢固地结合胶原蛋白,促进细菌在肠道的定植<sup>[16]</sup>,在伤口和/或感染组织中,*fbpA*和*fbpB*可以预防Fn纤颤并延迟伤口的愈合,从而加剧感染<sup>[17]</sup>。Johnston *et al.*<sup>[18]</sup>发现,动物饲料中分离出的大多数产气荚膜梭菌菌株都是A型毒素,大多数菌株也具有 $\theta$ 毒素,与本研究结果一致,而*plc*基因和*pfoA*基因分别编码 $\alpha$ 毒素、 $\theta$ 毒素,是引起气性坏疽的主要细胞外毒素<sup>[19]</sup>,在动物园易发生外伤感染,尤其是交配季节伤口处理不当极易导致急性死亡,需要对动物饲料进行严格把控;*cpb2*基因可编码 $\beta_2$ 毒素, $\beta_2$ 毒素是一种重要的坏死性致死毒素,可能与人和动物腹泻以及胃肠道疾病相关<sup>[20]</sup>,但其致病机制目前尚不明确。菌株普遍携带多种细胞外降解酶,如胶原酶、透明质酸酶和唾液酸酶等,已证实*nanH*、*nanI*和*nanJ*基因可增强产气荚膜梭菌肠毒素的细胞毒性<sup>[21]</sup>,*colA*基因编码 $\kappa$ 毒素,有助于引发坏死性肠炎的病理过程<sup>[22]</sup>,*nagH*等透明质酸酶为推定的透明质酸酶,可能同气性坏疽相关<sup>[23]</sup>。*VirR/VirS*双组分系统的作用机制尚不完全清楚,已证实其可直接调控*pfoA*、*netB*基因的转录,间接调节 $\alpha$ 毒素、 $\beta_2$ 毒素和胶原酶的表达<sup>[24]</sup>,来控制产气荚膜梭菌感染的发病机制;*ClpP*基因是一种丝氨酸蛋白酶,主要功能是清除或降解细菌胞内合成不当、受损伤、变性聚集或无用的蛋白,从而维持细菌正常代谢和胞内蛋白质的动态平衡,与药物敏感性和毒力调控也有关系,国内外有多个针对*ClpP*基因的药物开发计划,有希望使*ClpP*基因的蛋白降解功能失控达到杀灭病原体<sup>[25]</sup>。此外,10株产气荚膜梭菌还携带多种肠杆菌素、溶血素和IV型菌毛等<sup>[26-28]</sup>毒力基因,可能

来源于其他细菌,通过质粒、整合子以及转座子等在菌株间发生水平基因转移而获得,并可能长期存在于环境中,对动物健康存在威胁。

综上所述,本研究通过细菌基因组框架图测序,对上海地区动物园产气荚膜梭菌分离株进行回顾性分析,补充和完善了pubMLST数据库中野生动物的相关数据,为病原菌的遗传分析、流行病学调查等提供参考,为动物园外伤型感染及腹泻型疾病提供防控和治疗的思路。

### 参考文献:

- [1] 杨贝莹. 江西部分地区动物源产气荚膜梭菌 $\beta_2$ 毒素分子生态分析及其检测方法的建立[D]. 南昌: 江西农业大学, 2023.  
YANG B Y. Molecular ecological analysis of *Clostridium perfringens*  $\beta_2$  toxin from animals from some regions of Jiangxi Province and the establishment of its detection method[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2023.
- [2] DE VOS P, GARRITY G M, JONES D, *et al.* Bergry's manual of systematic bacteriology: Vol. 3: the Firmicutes[M]. 2nd ed. Dordrecht: Springer, 2009: 799-801.
- [3] ROOD J I, ADAMS V, LACEY J, *et al.* Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme[J]. *Anaerobe*, 2018, 53: 5-10.
- [4] 蒋永鑫. 黑龙江省牛源产气荚膜梭菌的分离鉴定与MLST分型研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2023.  
JIANG Y X. Isolation, identification and MLST typing of *Clostridium perfringens* from cattle in Heilongjiang Province[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2023.
- [5] ABDEL-GLIL M Y, THOMAS P, LINDE J, *et al.* Establishment of a publicly available core genome multilocus sequence typing scheme for *Clostridium perfringens*[J]. *Microbiology Spectrum*, 2021, 9(2): e00533-21.
- [6] 董俊斌, 李静, 丁玉林, 等. 一例赤大袋鼠梭菌性肠炎的诊断和病原分离鉴定[J]. *野生动物学报*, 2024, 45(2): 403-408.  
DONG J B, LI J, DING Y L, *et al.* Diagnosis and pathogen isolation of a case of clostridial enteritis in red kangaroo[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2024, 45(2): 403-408.
- [7] 付宇航, 汪明权, 高兴, 等. 石首麋鹿产气荚膜梭菌病的综合诊断[J]. *野生动物学报*, 2022, 43(1): 202-206.  
FU Y H, WANG M Q, GAO X, *et al.* Comprehensive diagnosis of *Clostridium perfringens* in *Elaphurus davidianus* of Shishou[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2022, 43(1): 202-206.
- [8] 刘佳丹, 殷茵, 孔垂民, 等. 貉A型产气荚膜梭菌食物中毒的诊治[J]. *中国兽医杂志*, 2019, 55(10): 59-60;129.  
LIU J H, YIN Y, KONG C M, *et al.* Diagnosis and treatment of food poisoning caused by *Clostridium perfringens* type A in *Nyctereutes procyonoides*[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2019, 55(10): 59-60;129.
- [9] 王振辉, 武桂梅, 刘军, 等. 狗肠毒血症的诊治[J]. *中国兽医*

- 杂志, 2008, 44(10): 69-70.
- WANG Z H, WU G M, LIU J, *et al.* Diagnosis and treatment of enterotoxemia in *Capreolus pygargus* [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2008, 44(10): 69-70.
- [10] 刘燕, 李伟杰, 普天春, 等. C型产气荚膜梭菌致麋鹿死亡病例[J]. 中国兽医杂志, 2012, 48(4): 81-82.
- LIU Y, LI W J, PU T C, *et al.* A case of *Elaphurus davidianus* death caused by *Clostridium perfringens* type C [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2012, 48(4): 81-82.
- [11] 王潘龙, 程佳佳, 尹月, 等. 动物源A型产气荚膜梭菌流行情况调查及 $\alpha$ 毒素基因分析[J]. 中国兽医杂志, 2023, 59(7): 47-53.
- WANG P L, CHENG J J, YIN Y, *et al.* Epidemiological investigation of *Clostridium perfringens* type A from animal sources and analysis of  $\alpha$  toxin genes [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2023, 59(7): 47-53.
- [12] SONG X L, ZHONG Z Y, BAI J D, *et al.* Emergence of genetic diversity and multi-drug resistant *Clostridium perfringens* from wild birds [J]. BMC Veterinary Research, 2024, 20(1): 300.
- [13] XIU L, LIU Y, WU W, *et al.* Prevalence and multilocus sequence typing of *Clostridium perfringens* isolated from 4 duck farms in Shandong Province, China [J]. Poultry Science, 2020, 99(10): 5105-5117.
- [14] XU W P, ZHANG H N, HU Z X, *et al.* Prevalence and multilocus sequence typing of *Clostridium perfringens* isolated from retail chicken products and diseased chickens in Tai'an region, China [J]. Veterinary Medicine and Science, 2021, 7(6): 2339-2347.
- [15] ZHONG J X, ZHENG H R, WANG Y Y, *et al.* Molecular characteristics and phylogenetic analysis of *Clostridium perfringens* from different regions in China, from 2013 to 2021 [J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1195083.
- [16] MEHDIZADEH GOHARI I, NAVARRO M A, LI J H, *et al.* Pathogenicity and virulence of *Clostridium perfringens* [J]. Virulence, 2021, 12(1): 723-753.
- [17] MATSUNAGA N, NARUKAWA N, YAMASAKI T, *et al.* Inhibition of the interaction between fibronectin and dermatopontin by *Clostridium perfringens* fibronectin-binding proteins [J]. Microbiology and Immunology, 2021, 65(8): 333-341.
- [18] JOHNSTON M D, WHITESIDE T E, ALLEN M E, *et al.* Toxicogenic profile of *Clostridium perfringens* strains isolated from natural ingredient laboratory animal diets [J]. Comparative Medicine, 2022, 72(1): 50-58.
- [19] 许崇利. 魏氏梭菌外毒素的研究进展[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2016, 44(1): 125-131.
- XU C L. Development of *Clostridium welchii* exotoxin [J]. Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition), 2016, 44(1): 125-131.
- [20] 龙纯鹰子. 腹泻与健康湖羊肠道菌群分析及Cp菌 $\beta_2$ 毒素多克隆抗体的制备[D]. 南昌: 江西农业大学, 2024.
- LONG C Y Z. Genome-wide analysis of *Clostridium perfringens* Jiangxi strain of sheep origin and preparation of polyclonal antibody against atypical  $\beta_2$  toxin [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2024.
- [21] LI J H, MCCLANE B A. NanH is produced by sporulating cultures of *Clostridium perfringens* type F food poisoning strains and enhances the cytotoxicity of *C. perfringens* enterotoxin [J]. mSphere, 2021, 6(2): e00176-21.
- [22] BIN X, PAWELEK P D. Evidence of isochorismate channeling between the *Escherichia coli* enterobactin biosynthetic enzymes *EntC* and *EntB* [J]. Protein Science, 2024, 33(8): e5122.
- [23] CAMARGO A, RAMÍREZ J D, KIU R, *et al.* Unveiling the pathogenic mechanisms of *Clostridium perfringens* toxins and virulence factors [J]. Emerging Microbes & Infections, 2024, 13(1): 2341968.
- [24] MEHDIZADEH GOHARI I, LI J H, MCCLANE B A. Identifying the basis for VirS/VirR two-component regulatory system control of *Clostridium perfringens* beta-toxin production [J]. Journal of Bacteriology, 2021, 203(18): e00279-21.
- [25] 颜骊颖, 张亚培, 董世雷. 细菌 *ClpP* 蛋白酶功能及其抗菌药物靶点的研究进展 [J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(1): 15-21.
- YAN L Y, ZHANG Y P, DONG S L. Research progress on the function, drug target and its development of bacterial *ClpP* [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2022, 47(1): 15-21.
- [26] VAN DAMME L, COX N, CALLENS C, *et al.* Protein truncating variants of *colA* in *Clostridium perfringens* type G strains [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021, 11: 645248.
- [27] POURHASSAN N Z, HACHANI E, SPITZ O, *et al.* Investigations on the substrate binding sites of hemolysin B, an ABC transporter, of a type 1 secretion system [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1055032.
- [28] MCKEE R W, ALEKSANYAN N, GARRETT E M, *et al.* Type IV pili promote *Clostridium difficile* adherence and persistence in a mouse model of infection [J]. Infection and Immunity, 2018, 86(5): e00943-17.