

Trabajo Fin de Máster

Toxiinfecciones alimentarias causadas por *Clostridium perfringens*

**Food poisoning caused by
*Clostridium perfringens***

Ylenia Medina Aguiar

Tutora: Dra. Victoria de Zárate Machado

Área de conocimiento: Microbiología

**Departamento: Bioquímica, Microbiología, Biología Celular y
Genética**

Curso 2022-2023 (Convocatoria de julio)

Índice

Resumen	4
Abstract.....	4
1. Introducción	5
2. Objetivos.....	5
3. Material y métodos	6
4. <i>Clostridium perfringens</i>	6
5. Fuente de acceso a los alimentos y condiciones de supervivencia	10
6. Toxiinfección por <i>C. perfringens</i>.....	11
7. Métodos de análisis.....	14
8. Medidas de prevención y control	16
9. Conclusiones	16
10. Bibliografía	17

Resumen

Clostridium perfringens es una bacteria patógena de interés alimentario, debido principalmente a su capacidad para generar esporas de gran resistencia a condiciones extremas. Se encuentra presente en diversidad de ambientes, transmitiéndose principalmente a través de la vía fecal-oral tras el consumo de productos cárnicos contaminados, entre otros. Los tipos C y F de *C. perfringens* producen toxinas formadoras de poros en las membranas enterocitos que provocan desde cuadros sintomáticos leves de diarreas acuosas, hasta cuadros muy graves de enteritis necrosante. Para la prevención de su transmisión, es fundamental el mantenimiento de prácticas de higiene correctas que eviten la entrada de las esporas y el crecimiento de las células vegetativas antes de su consumo.

Palabras clave: *C. perfringens*; esporas; toxiinfección alimentaria; toxina.

Abstract

Clostridium perfringens is a pathogenic bacterium of food interest, mainly due to its ability to generate highly resistant spores to extreme conditions. It is present in a variety of environments, being transmitted mainly through fecal-oral route after the consumption of contaminated meat products, among others. *C. perfringens* type C and F produce pore-forming toxins that affect enterocyte membrane, causing from mild syndromes such as aqueous diarrhea to the severe necrotizing enteritis disease. To prevent its transmission, it is essential to maintain correct hygiene practices that prevent the entry of spores and the growth of vegetative cells before consumption.

Keywords: *C. perfringens*; spores; food-poisoning; toxin.

1. Introducción

Clostridium perfringens (*C. perfringens*) es un patógeno esporulado que se encuentra presente de forma ubicua en el medio ambiente y en el tracto gastrointestinal de humanos y animales. Este microorganismo es responsable de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), tales como gastroenteritis de carácter leve a grave y enteritis necrosante (Grenda et al., 2023; Uzal et al., 2018).

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades estiman que esta bacteria es la responsable, cada año, de casi un millón de ETAs (Centers for Disease Control and Prevention, 2023), aunque suele estar infravalorada. Muestra de ello es que en el año 2020 sólo se reportaron 682 casos de personas infectadas en países miembros de la Unión Europea (“The European Union One Health 2020 Zoonoses Report”, 2021).

Todo ello, sumado a la elevada resistencia que presentan sus esporas y la facilidad de acceso a los alimentos, hace que *C. perfringens* sea en la actualidad un patógeno relevante en la transmisión de enfermedades de origen alimentario (Alanazi et al., 2018).

2. Objetivos

El objetivo de este trabajo es realizar de una revisión sobre las toxiinfecciones alimentarias causadas por *C. perfringens*. Para ello, se describirán las características del microorganismo, las diferentes fuentes de acceso a los alimentos y su supervivencia en los mismos. Seguidamente se tratará la enfermedad que produce en los consumidores, los métodos de análisis y para finalizar se establecerán las principales medidas de prevención para evitar su transmisión.

3. Material y métodos

La búsqueda de información para esta revisión bibliográfica se ha realizado a través de bases de datos como Web of Science, PubMed, Science Direct y SpringerLink y, a su vez, en las referencias mencionadas en los artículos consultados. También cabe destacar el acceso a páginas oficiales de revistas científicas de los organismos gubernamentales de referencia en el sector. Los términos clave buscados fueron “*Clostridium perfringens*”, “toxin”, “spore”, “food poisoning”.

La selección de los artículos se centró en aquellas publicadas en los últimos 5 años. Los estudios potencialmente relevantes fueron descargados tras revisar los títulos y resúmenes. Para gestionar las referencias por orden alfabético se empleó Mendeley.

4. *Clostridium perfringens*

C. perfringens es una bacteria de la familia Clostridiaceae (**Tabla 1**), grampositiva y anaerobia, aunque hay autores que sugieren que se pueda considerar microaerofila, puesto que en condiciones muy concretas es capaz de resistir ambientes con presencia de una pequeña cantidad de oxígeno (Kiu & Hall, 2018; Mehdizadeh Gohari et al., 2021).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *C. perfringens*.

Taxonomía	
Dominio	Bacteria
División	Firmicutes
Clase	Clostridia
Orden	Clostridiales
Familia	Clostridiaceae
Género	<i>Clostridium</i>
Especie	<i>Clostridium perfringens</i>

Es un bacilo de aspecto recto o ligeramente curvado de unos 1,3-19 µm de largo y 0,6-2,4 µm de ancho, formando aislados o cadenas cortas. Es inmóvil, capsulado y forma esporas ovoides subterminales (**Figura 1**) que rara vez son visibles *in vitro* (Khiav & Zahmatkesh, 2021).

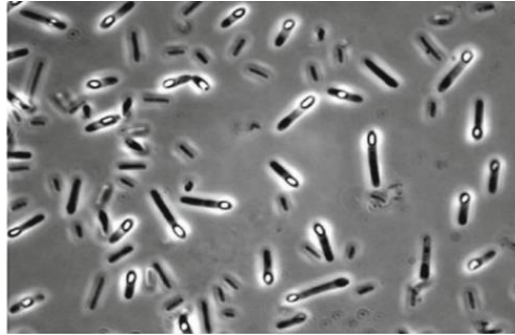


Figura 1. *C. perfringens* observados al microscopio de contraste de fases. Las formas ovaladas brillantes dentro de la bacteria son esporas (Wilson & Wilson, 2021).

Las principales características bioquímicas de *C. perfringens* se recogen en la **Tabla 2** (Fathima et al., 2022).

Tabla 2. Características bioquímicas de *C. perfringens*.

Característica Bioquímica	Resultado
Agar sangre de cordero (SBA)	Doble zona de β -hemólisis
Agar TSC	Colonias de color negro
Sulfuro de hidrógeno	Positivo
Reducción de nitrato	Reducción de nitrato a nitrito
Actividad de lecitinasa	Positivo
Hidrólisis de gelatina	Positivo
Fermentación de carbohidratos	Producción de ácido y gas por fermentación de glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa
Prueba de indol	Negativo
Prueba de rojo de metilo	Positivo
Voges-Proskauer	Negativo

La actividad de lecitinasa es un rasgo característico de *C. perfringens*. Esta enzima hidroliza la lecitina, un componente de los tejidos del huésped, permitiendo a la bacteria obtener nutrientes adicionales. Cuando se crece en medio de cultivo con yema de huevo, se puede observar la aparición de un precipitado opaco, debido a la acción de esta enzima (Issimov et al., 2022).

Otras características importantes son: la hemólisis completa de los glóbulos rojos, conocida como β -hemólisis en agar sangre de cordero; y la producción de sulfuro de hidrógeno (H_2S) a partir del tiosulfato en agar Triptona Sulfito Cicloserina (TSC), que reacciona con la sal férrica y origina colonias negras (Bendary et al., 2022).

También puede hidrolizar la gelatina, mediante la producción de gelatinasa y en cuanto a la fermentación de carbohidratos, es capaz de fermentar, entre otros, la glucosa, lactosa, sacarosa y maltosa, produciendo ácidos orgánicos como productos finales (Fathima et al., 2022).

Además, *C. perfringens* es capaz de producir toxinas proteicas, muchas de las cuales son extracelulares. Hay más de 20 toxinas identificadas y se consideran los principales factores de virulencia durante el curso de la enfermedad (Geier et al., 2021; Grenda et al., 2023). La clasificación actual de *C. perfringens* se basa en su capacidad para producir una combinación de cuatro toxinas de tipificación (toxina α , toxina β , toxina ϵ y toxina ι), junto con otras toxinas (Mehdizadeh Gohari et al., 2021). De acuerdo con ello, se reconocen 7 toxinotipos de *C. perfringens*, desde A hasta G (**Tabla 3**) (Rood et al., 2018).

Tabla 3. Tipificación de *C. perfringens* basado en las toxinas.

Toxinotipo (Genes)	Toxina α (<i>plc</i> o <i>cpa</i>)	Toxina β (<i>cpb</i>)	Toxina ϵ (<i>etx</i>)	Toxina ι (<i>iap</i> y <i>ibp</i>)	CPE (<i>cpe</i>)	NetB (<i>netB</i>)
A	+	-	-	-	-	-
B	+	+	+	-	-	-
C	+	+	-	-	±	-
D	+	-	+	-	±	-
E	+	-	-	+	±	-
F	+	-	-	-	+	-
G	+	-	-	-	-	+

+, produce la toxina; -, no produce la toxina; ±, la toxina puede o no ser producida. CPE, del inglés *Clostridium perfringens* enterotoxin. NetB, del inglés necrotic enteritis B-like toxin.

La importancia de las toxinas para la patogenicidad de *C. perfringens* es evidente, ya que existe una asociación entre los tipos específicos de toxinas (o toxinotipos) y las diferentes enfermedades que pueden causar (**Tabla 4**) (Mehdizadeh Gohari et al., 2021).

Tabla 4. Enfermedades producidas por *C. perfringens*.

Toxinotipo	Enfermedades y especies afectadas
A	Gangrena gaseosa en humanos y varios animales; posible implicación en enterotoxemia y en enfermedades gastrointestinales de rumiantes, caballos y cerdos; gastroenteritis hemorrágica en perros y caballos.
B	Disentería en corderos.
C	Enteritis hemorrágica y necrosante de recién nacidos y animales; enteritis necrótica en humanos.
D	Enterotoxemia en ovinos, caprinos y bovinos; enterocolitis en cabras.
E	Posible implicación en gastroenteritis de bovinos y conejos.
F	Toxiinfección alimentaria humana, diarrea asociada a antibióticos y diarrea esporádica.
G	Enteritis necrótica de las aves de corral.

Aquellas que afectan a los humanos son *C. perfringens* tipo A, C y F, siendo las dos últimas de origen alimentario y, por lo tanto, sobre las que nos centraremos en este estudio (Grenda et al., 2023; Zaragoza et al., 2019).

Como hemos comentado anteriormente, *C. perfringens* es una bacteria esporulada. Su ciclo de vida se muestra en la **Figura 2** (Shen et al., 2019). Cuando las condiciones ambientales son desfavorables, como ocurre cuando hay baja disponibilidad de nutrientes, la célula vegetativa inicia el proceso de esporulación, que acaba con la lisis del esporangio y la liberación de la spora. Las esporas de *C. perfringens* son estructuras resistentes que pueden sobrevivir en el medio ambiente a condiciones adversas, incluidas las altas temperaturas. Además, son metabólicamente inertes y, por tanto, no producen toxinas. Cuando las condiciones ambientales son favorables, las esporas germinan y se convierten en células vegetativas activas que sí producen toxinas (Liggins et al., 2023).

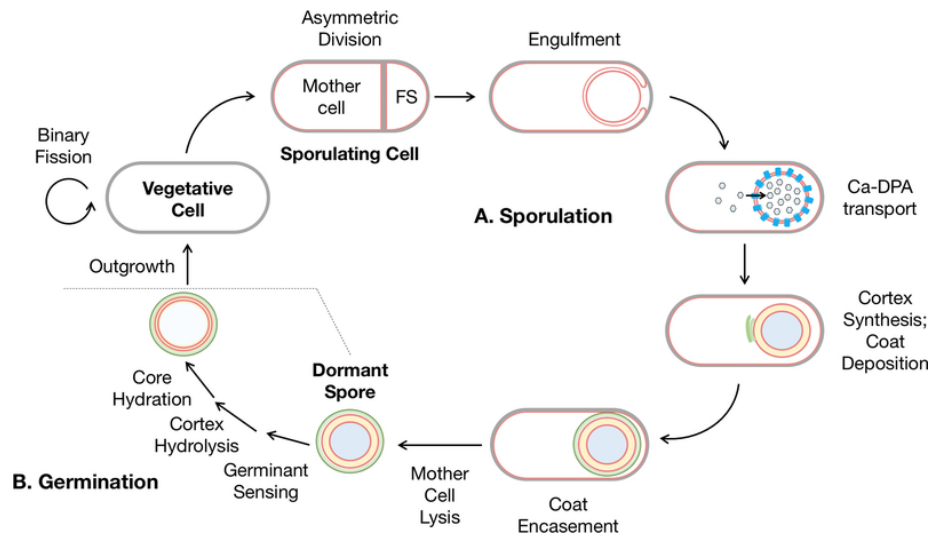


Figura 2. Ciclo de vida *C. perfringens*. (A) Esporulación; (B) Germinación.

5. Fuente de acceso a los alimentos y condiciones de supervivencia

C. perfringens se encuentra en diversos ambientes como el suelo, la vegetación en descomposición, el aire, las aguas residuales y las heces. También forma parte de la microbiota del tracto gastrointestinal de humanos y animales (Forti et al., 2020).

La principal fuente de acceso de *C. perfringens* a los alimentos es a través de la contaminación con materiales fecales o del medio ambiente, durante la manipulación y preparación de los mismos. También, durante la fase de evisceración en el matadero puede producirse la contaminación de la carne con el contenido intestinal del animal (Fayez et al., 2021).

C. perfringens es un microorganismo exigente desde el punto de vista nutricional, requiriendo más de 12 aminoácidos y vitaminas diferentes para su crecimiento. La temperatura de crecimiento oscila entre 15°C y 55°C (siendo de 43°C a 45°C su rango ideal), con la excepción de algunas cepas que pueden crecer a 6°C. Cabe destacar la tasa de crecimiento tan rápida que posee, con un tiempo de generación que puede ser de 8 minutos a su temperatura óptima. El rango de pH para el crecimiento es de 5 a 9, prefiriendo pH cercanos a la neutralidad y la actividad de agua (a_w) próxima a la unidad (Chen et al., 2020; Fathima et al., 2022; Soni et al., 2022).

Todo ello, unido a que requiere condiciones anaeróbicas para crecer, hace de los alimentos con alto contenido proteico que han sido cocinados, los más adecuados para su transmisión. De hecho, alrededor del 40% de los brotes de *C. perfringens* se deben al consumo de carnes cocinadas de origen vacuno y porcino, junto con las aves de corral como pollo y pavo. Otros alimentos comunes son las sopas y guisos, productos lácteos y pescados cocidos, entre otros (Bhunias, 2018; Warmate & Onarinde, 2023).

Además, los brotes son más frecuentes cuando estos alimentos se preparan comercialmente y son destinados a restaurantes o eventos (*catering, buffet, etc.*). Durante la cocción, se destruyen las células vegetativas, pero no las esporas, que pueden soportar temperaturas de hasta 100°C durante una hora. Luego, las esporas pueden germinar y originar células vegetativas que inician el crecimiento, debido a las condiciones anaeróbicas generadas en la cocción. Además, si estos alimentos no se enfrían rápidamente y se mantienen a temperaturas abusivas, la carga bacteriana puede alcanzar valores superiores a 10^6 células vegetativas por gramo en poco tiempo (Bendary et al., 2022; de la Mora et al., 2020).

6. Toxiinfección por *C. perfringens*

C. perfringens se caracteriza por producir una toxico-infección, es decir, la enfermedad tras el consumo de microorganismos vivos que producen las toxinas a nivel intestinal.

La dosis infectiva se encuentra en torno a 10^8 células vegetativas por gramo de alimento (Cortés-Sánchez, 2018). Tras el consumo, muchas de estas células mueren cuando se exponen al pH ácido del estómago, pero las supervivientes esporulan en el intestino delgado debido al pH alcalino. Después de completar el ciclo de esporulación, la célula madre se lisa, liberando la espora y las toxinas en la luz intestinal (Bhunias, 2018; Shen et al., 2019).

C. perfringens tipo C y F producen la enterotoxina CPE, que es un polipéptido de 35 KDa, codificado por el gen *cpe*, localizado en el cromosoma o en un plásmido (Wang et al., 2021). El mecanismo de patogenicidad consiste en la

formación de poros en la membrana de las células epiteliales intestinales. La CPE se une a la proteína claudina en los enterocitos formando un complejo de unos 90 kDa denominado “complejo pequeño CPE”. Este complejo pequeño luego se oligomeriza para formar un hexámero prepоро de aproximadamente 450 kDa (CH-1). El CH-1 se inserta en la membrana para formar un complejo denominado CH-2 (600 kDa) que forma un poro activo, permitiendo la entrada de iones de calcio, que activa la oncosis o apoptosis dependiendo de la cantidad de CPE presente (Shrestha et al., 2018). A dosis bajas, hay una entrada de Ca^{2+} más limitada, causando la muerte por apoptosis; mientras que, a dosis altas, permiten una entrada masiva de calcio que da como resultado la oncosis. Todo ello dispara la inflamación y la pérdida de fluidos e iones (Na^+ y Cl^-) y conduce a la aparición de la diarrea (Ogbu et al., 2022) (**Figura 3**).

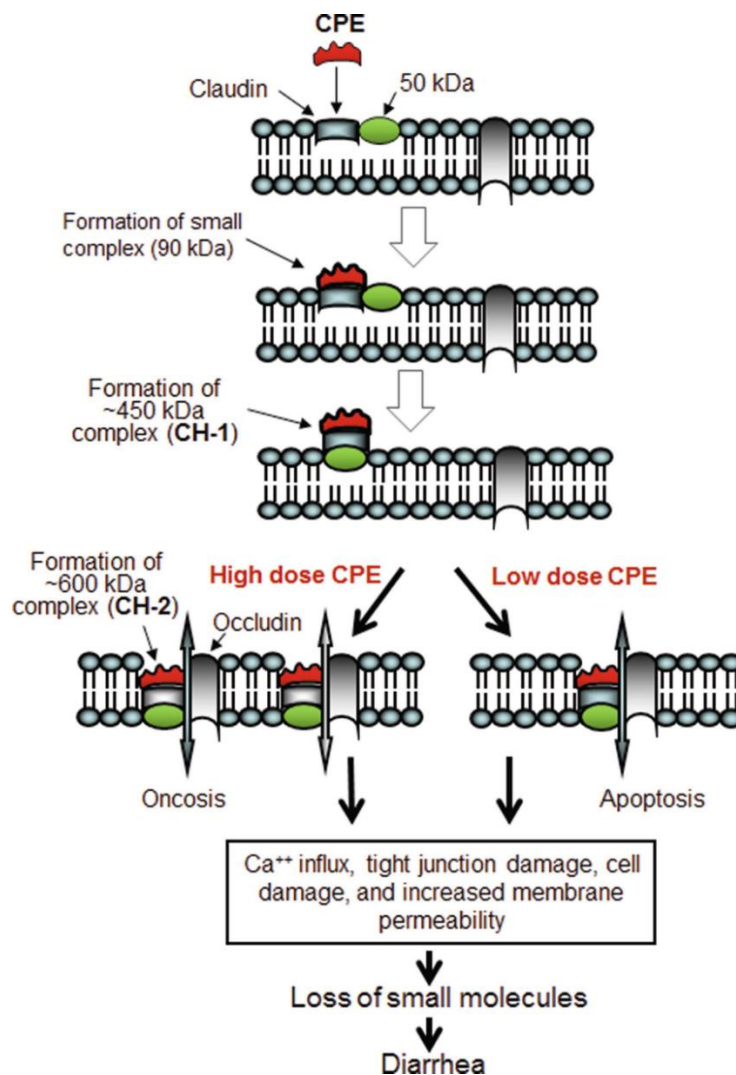


Figura 3. Mecanismo de patogenicidad de la enterotoxina CPE de *C. perfringens*. (Bhunia, 2018).

En cuanto al cuadro clínico, tras un período de incubación breve (de 8 a 12 horas), los síntomas son diarrea acuosa, dolor abdominal y náuseas, sin fiebre, ni vómitos. La enfermedad suele ser leve y autolimitada en individuos sanos y se resuelven en 24 horas. Sin embargo, los síntomas pueden persistir hasta dos semanas en personas que presentan algún tipo de inmunodeficiencia, en niños y en pacientes de edad avanzada, originando deshidratación y otras complicaciones (Abdel-Guil et al., 2021; Tejan et al., 2018; Fayez et al., 2021).

La enteritis necrosante es causada por *C. perfringens* tipo C, productora de toxinas CPE y β (CPB), que parecen actuar de forma sinérgica (Forti et al., 2020). El gen *cpb* que codifica para la toxina β , se localiza en plásmidos que pueden también contener genes de otras toxinas adicionales como el *cpe*. La CPB también es una toxina formadora de poros oligomerizante de aproximadamente 35 kDa cuyo mecanismo de patogenicidad se resume en la **Figura 4** (Navarro et al., 2018).

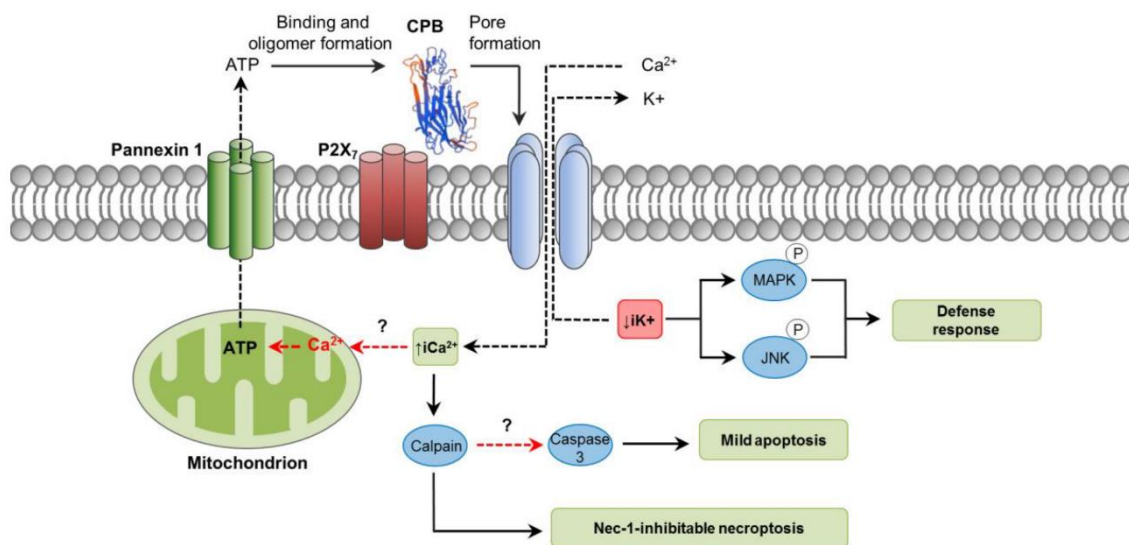


Figura 4. Mecanismo de patogenicidad de la enterotoxina CPB de *C. perfringens*.

Tras la unión inicial de CPB a su receptor (P2X₇), se induce una pérdida de ATP en los enterocitos a través del canal de liberación pannexina 1. El ATP liberado estimula posteriormente la oligomerización y formación de poros por la CPB. A través de los poros, se produce la entrada de iones Ca^{2+} y salida de K^{+} , lo que promueve la fosforilación de quinasas (MAPK y JNK), que inducen la inflamación celular y en último término originan necrosis.

La patología se caracteriza por hemorragia y necrosis del epitelio del intestino delgado, así como también por septicemia. El daño comienza en la mucosa intestinal, pero puede progresar a todas las capas del intestino (Wang, 2020). Los síntomas incluyen diarrea, calambres abdominales, fiebre y necrosis severa del intestino que puede resultar fatal si no se opera a tiempo. Esta enfermedad poco frecuente, también conocida como “pigbel” por su asociación con la ingestión carne de cerdo contaminada, tiene una tasa de mortalidad del 40%, especialmente en niños y personas desnutridas. Es común en zonas donde prevalece la poca higiene y la desnutrición, aunque también ocurre en países desarrollados (Tejan et al., 2018; Wild et al., 2018; Zaragoza et al., 2019; Zeng et al., 2021).

7. Métodos de análisis

Debido a su alta dosis infectiva, el método de análisis de *C. perfringens* en alimentos incluye su enumeración. Existen varios métodos estandarizados, como el desarrollado por la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) ISO 7937:2005 (**Figura 5**) (Cortés-Sánchez, 2018).



Figura 5. Método ISO 7937:2005 para la enumeración de *C. perfringens*.

El medio de aislamiento es el agar selectivo y diferencial TSC. Este medio de cultivo contiene componentes específicos que inhiben el crecimiento de otras bacterias y promueven el de *C. perfringens*, como puede ser la incubación en atmósfera anaerobia y la presencia de cicloserina. Si se obtienen colonias negras, debido a la producción de sulfuro de hidrógeno, se sospecha de *C. perfringens* (**Figura 6**).



Figura 6. Crecimiento de presuntas colonias de *C. perfringens* en agar TSC.

Con estas colonias negras, deben realizarse las pruebas de confirmación correspondientes, como es la siembra en medio lactosa-sulfito (LS) (**Figura 7**) o en medio movilidad nitrato y lactosa con gelatina. También se puede realizar la confirmación mediante ensayos inmunológicos como el ELISA (ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas) o por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Abdelrahim et al., 2019; Achakzai et al., 2020).



Figura 7. Crecimiento de *C. perfringens* en caldo LS. (A), producción de sulfhídrico y fermentación de lactosa con producción de gas; (B), control negativo.

8. Medidas de prevención y control

El mayor problema que presenta *C. perfringens* son sus esporas extremadamente resistentes a temperaturas y presiones extremas, a radiación e incluso a digestión enzimática y oxidantes, por lo que pueden sobrevivir durante largos períodos de tiempo y servir como reservorio ambiental (Venhorst et al., 2022).

Entre las medidas que se pueden adoptar para prevenir la contaminación por *C. perfringens* en los alimentos, destacan las buenas prácticas higiénicas durante las manipulaciones de despiece en los mataderos, para evitar el contacto con materia de origen fecal de los propios animales de abasto y del entorno de trabajo (Maikanov et al., 2019).

Durante la cocción de los productos cárnicos, es importante controlar la temperatura, de manera que se alcancen los 75°C en el interior del alimento para garantizar así la inactivación las células vegetativas (Bendary et al., 2022).

Tras la cocción, se debe refrigerar rápidamente el alimento, para evitar la germinación de las esporas y el crecimiento explosivo de las células vegetativas. Si se trata de pequeñas cantidades de alimento, se puede colocar en caliente directamente en el refrigerador, pero si los cortes de carne son grandes o se manejan grandes volúmenes de sopas y guisos, deben dividirse en pequeñas cantidades para garantizar que alcancen rápidamente la temperatura de refrigeración (Grenda et al., 2023; Shen et al., 2019).

9. Conclusiones

1. *C. perfringens* es una bacteria anaerobia, generadora de esporas y productora de numerosas toxinas extracelulares, en base a las cuales se clasifica en siete tipos (A a G). De ellos, los tipos C y F producen toxicoinfecciones y, por tanto, son de interés alimentario.
2. *C. perfringens* se encuentra en diversidad de ambientes, desde el suelo hasta el tracto intestinal humano y de animales; y desde allí accede a los alimentos durante las diferentes etapas de producción. La bacteria

encuentra las condiciones ideales para su crecimiento en productos cárnicos cocinados, debido a su alto contenido en proteínas y al ambiente anaerobio generado tras la cocción, alcanzando en pocas horas valores superiores a 10^6 células vegetativas por gramo.

3. Durante la germinación de las células vegetativas en el intestino, se liberan las toxinas que tienen la capacidad de formar poros en la membrana de los enterocitos. La toxina CPE, producida por los tipos C y F, ocasiona diarreas, más o menos graves en función del hospedador; mientras que la toxina β , producida por el tipo C, pueden acabar originando enteritis necrosante, una enfermedad poco frecuente y muy grave.
4. Los métodos de análisis para la identificación de *C. perfringens* se basan en el recuento en el medio de aislamiento selectivo TSC y la realización de pruebas confirmatorias posteriores sobre las colonias sospechosas.
5. Las medidas de prevención se basan en garantizar una higiene adecuada durante la preparación y manipulación de los alimentos. En especial, evitar la entrada de las esporas, asegurar que se alcanzan los 75°C en todo el alimento durante la cocción, y lograr una rápida refrigeración tras el calentamiento, evitando así la germinación de las esporas y la proliferación de las células vegetativas.

10. Bibliografía

- Abdel-Glil, M. Y., Thomas, P., Linde, J., Busch, A., Wieler, L. H., Neubauer, H., & Seyboldt, C. (2021). Comparative in silico genome analysis of *Clostridium perfringens* unravels stable phylogroups with different genome characteristics and pathogenic potential. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86148-8>
- Abdelrahim, A. M., Radomski, N., Delannoy, S., Djellal, S., Le Négrate, M., Hadjab, K., Fach, P., Hennekinne, J. A., Mistou, M. Y., & Firmesse, O. (2019). Large-Scale genomic analyses and toxinotyping of *clostridium perfringens* implicated in foodborne outbreaks in France. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00777>

- Achakzai, R., Taj, M. K., & Achakzai, K. B. (2020). Microbiological Studies on *Clostridium perfringens* Isolated from Commercial Poultry of Balochistan. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 9(2), 204–208. <https://doi.org/10.5530/ajbls.2020.9.31>
- Alanazi, S., Alnoman, M., Banawas, S., Saito, R., & Sarker, M. R. (2018). The inhibitory effects of essential oil constituents against germination, outgrowth and vegetative growth of spores of *Clostridium perfringens* type A in laboratory medium and chicken meat. *Food Microbiology*, 73, 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.003>
- Bendary, M. M., Abd El-Hamid, M. I., El-Tarabili, R. M., Hefny, A. A., Algendy, R. M., Elzohairy, N. A., Ghoneim, M. M., Al-Sanea, M. M., Nahari, M. H., & Moustafa, W. H. (2022). *Clostridium perfringens* Associated with Foodborne Infections of Animal Origins: Insights into Prevalence, Antimicrobial Resistance, Toxin Genes Profiles, and Toxinotypes. *Biology*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/biology11040551>
- Bhunia, A. K. (2018). *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* (pp. 209–228). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7349-1_12
- Centers for Disease Control and Prevention. (2023). Prevent Illness From *C. perfringens*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/clostridium-perfringens.html>
- Chen, K., Ahmed, S., Sheng, Y.-J., Sun, C., Deng, C.-L., & Chandra Ojha, S. (2020). *Diagnostic Accuracy of Nucleic Acid Amplification-Based Assays for Clostridium perfringens-Associated Diseases: a Systematic Review and Meta-analysis*. <https://journals.asm.org/journal/jcm>
- Cortés-Sánchez, A. D. J. (2018). *Clostridium perfringens* in foods and fish. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(1), 112–117. <https://doi.org/10.15421/021816>
- De la Mora, Z. V. De, Macías-Rodríguez, M. E., Arratia-Quijada, J., Gonzalez-Torres, Y. S., Nuño, K., & Villarruel-López, A. (2020). *Clostridium perfringens* as foodborne pathogen in broiler production: Pathophysiology and potential strategies for controlling necrotic enteritis. *Animals*, 10(9), 1–28. <https://doi.org/10.3390/ani10091718>
- Fathima, S., Hakeem, W. G. Al, Shanmugasundaram, R., & Selvaraj, R. K. (2022). Necrotic Enteritis in Broiler Chickens: A Review on the Pathogen, Pathogenesis, and Prevention. In *Microorganisms* (Vol. 10, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10101958>
- Fayez, M., El-Ghareeb, W. R., Elmoslemany, A., Alsunaini, S. J., Alkafafy, M., Alzahrani, O. M., Mahmoud, S. F., & Elsohaby, I. (2021). Genotyping and antimicrobial susceptibility of *clostridium perfringens* and *Clostridioides difficile* in camel minced meat. *Pathogens*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/pathogens10121640>

- 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). <https://doi.org/10.3390/toxins12100650>
- Geier, R. R., Rehberger, T. G., & Smith, A. H. (2021). Comparative Genomics of Clostridium perfringens Reveals Patterns of Host-Associated Phylogenetic Clades and Virulence Factors. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649953>
- 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), 768. <https://doi.org/10.3390/pathogens12060768>
- Issimov, A., Baibaturov, T., Tayeva, A., Kenenbay, S., Abzhanova, S., Shambulova, G., Kuzembayeva, G., Kozhakhiev, M., Brel-Kisseleva, I., Safronova, O., Bauzhanova, L., Yeszhanova, G., Bukarbayev, K., Katasheva, A., & Uzal, F. A. (2022). Prevalence of Clostridium perfringens and Detection of Its Toxins in Meat Products in Selected Areas of West Kazakhstan. *Agriculture (Switzerland)*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/agriculture12091357>
- Khiav, L. A., & Zahmatkesh, A. (2021). Vaccination against pathogenic clostridia in animals: a review. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02728-w/Published>
- Kiu, R., & Hall, L. J. (2018). An update on the human and animal enteric pathogen Clostridium perfringens. In *Emerging Microbes and Infections* (Vol. 7, Issue 1). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0144-8>
- Liggins, M., Ramírez Ramírez, N., & Abel-Santos, E. (2023). Comparison of sporulation and germination conditions for Clostridium perfringens type A and G strains. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1143399>
- Maikanov, B., Mustafina, R., Auteleyeva, L., Wiśniewski, J., Anusz, K., Grenda, T., Kwiatek, K., Goldsztejn, M., & Grabczak, M. (2019). Clostridium botulinum and clostridium perfringens occurrence in Kazakh honey samples. *Toxins*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/toxins11080472>
- Mehdizadeh Gohari, I., A. Navarro, M., Li, J., Shrestha, A., Uzal, F., & A. McClane, B. (2021). Pathogenicity and virulence of Clostridium perfringens. In *Virulence* (Vol. 12, Issue 1, pp. 723–753). Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1886777>
- Navarro, M. A., McClane, B. A., & Uzal, F. A. (2018). Mechanisms of action and cell death associated with Clostridium perfringens toxins. In *Toxins* (Vol. 10, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/toxins10050212>

- Ogbu, C. P., Roy, S., & Vecchio, A. J. (2022). Disruption of Claudin-Mediated Tight Junction Barriers by *Clostridium perfringens* Enterotoxin: Insights from Structural Biology. In *Cells* (Vol. 11, Issue 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cells11050903>
- 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>
- Shen, A., Edwards, A. N., Sarker, M. R., & Paredes-Sabja, D. (2019). *Sporulation and Germination in Clostridial Pathogens*. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3>
- Shrestha, A., Uzal, F. A., & McClane, B. A. (2018). *Enterotoxic Clostridia: Clostridium perfringens Enteric Diseases*. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3>
- Soni, A., Bremer, P., & Brightwell, G. (2022). A Comprehensive Review of Variability in the Thermal Resistance (D-Values) of Food-Borne Pathogens—A Challenge for Thermal Validation Trials. In *Foods* (Vol. 11, Issue 24). MDPI. <https://doi.org/10.3390/foods11244117>
- Tejan, N., Datta, P., & Gupta, V. (2018). BACTERIAL DIARRHOEA: A COMPREHENSIVE REVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(12), 5015. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9\(12\).5015-31](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(12).5015-31)
- The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. (2021). *EFSA Journal*, 19(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6971>
- 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>
- Venhorst, J., van der Vossen, J. M. B. M., & Agamennone, V. (2022). Battling Enteropathogenic Clostridia: Phage Therapy for *Clostridioides difficile* and *Clostridium perfringens*. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.891790>
- Wang, B., Dong, W., Ma, L., Dong, Y., Wang, S., Yuan, Y., Ma, Q., Xu, J., Yan, W., Nan, J., Zhang, Q., Xu, W., Ma, B., Chu, Y., Zhang, J., Li, L., & Li, Y. (2021). Prevalence and genetic diversity of *clostridium perfringens* isolates in hospitalized diarrheal patients from central china. *Infection and Drug Resistance*, 14, 4783–4793. <https://doi.org/10.2147/IDR.S338593>

- Wang, Y. H. (2020). Sialidasas From *Clostridium perfringens* and Their Inhibitors. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00462>
- Warmate, D., & Onarinde, B. A. (2023). Food safety incidents in the red meat industry: A review of foodborne disease outbreaks linked to the consumption of red meat and its products, 1991 to 2021. In *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 398). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110240>
- Wild, W., Bormann, F., Sweiti, H., Tamimi, N., Pichulek, D., Divo, M., Dörr, P., & Schwarzbach, M. (2018). *Clostridium perfringens* septicemia and a bleeding ulcer of a jejunal interposition: A case report and short review of the literature. In *Case Reports in Medicine* (Vol. 2018). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2018/4278904>
- Wilson, M., & Wilson, P. J. K. (2021). *CLOSE ENCOUNTERS OF THE MICROBIAL KIND Everything You Need to Know About Common Infections*.
- Zaragoza, N. E., Orellana, C. A., Moonen, G. A., Moutafis, G., & Marcellin, E. (2019). Vaccine production to protect animals against pathogenic clostridia. In *Toxins* (Vol. 11, Issue 9). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/toxins11090525>
- Zeng, S., Tsia Hin Fong, C. J., Li, L., Liang, Y., Liang, Q., Wei, B., & Tao, J. (2021). Acute hemorrhagic necrotizing enteritis: A case report and review of the literature. *Annals of Palliative Medicine*, 10(5), 5853–5861. <https://doi.org/10.21037/apm-20-1131>