



B型诺维梭菌致病机制与防治技术

魏 铭^{1,2}, 郭延伟³, 任小侠¹, 冯 妍¹, 金美君¹, 赵浩然¹, 朱良全¹, 李俊平¹,
姚文生¹, 张一帜^{1*}, 邹 明^{2*}

(1. 中国兽医药品监察所, 北京 100081; 2. 青岛农业大学, 青岛 266109; 3. 聊城市农业科学院, 聊城 252000)

摘 要: 诺维梭菌(*Clostridium novyi*, *C. novyi*)是一种广泛存在于自然界中的条件性致病菌, 主要感染牛、羊, 引起传染性坏死性肝炎(黑疫)、败血症、气性坏疽等一系列急性病症, 严重影响了全球畜牧养殖业的发展。本文对B型诺维梭菌(*Clostridium novyi* type B, *C. novyi* type B)致病机理和防治技术进行综述, 并对其相关疫苗的原理及优劣进行比较分析, 旨在为B型诺维梭菌的致病机制研究和防控实践提供基础支撑和思路启发。

关键词: B型诺维梭菌; Tcn α ; 传染性坏死性肝炎; 致病机制; 疫苗研究

中图分类号: S852.61

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)03-1316-08

Research Advances in Pathogenesis and Prevention of *Clostridium novyi* Type B

WEI Ming^{1,2}, GUO Yanwei³, REN Xiaoxia¹, FENG Yan¹, JIN Meijun¹, ZHAO Haoran¹,
ZHU Liangquan¹, LI Junping¹, YAO Wensheng¹, ZHANG Yizhi^{1*}, ZOU Ming^{2*}

(1. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 2. Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 3. Liaocheng Academy of Agricultural Sciences, Liaocheng 252000, China)

Abstract: *Clostridium novyi* is an opportunistic pathogen widely distributed in nature, primarily infects cattle and sheep, causing a range of acute diseases such as infectious necrotic hepatitis (black disease), septicemia, and gas gangrene, which severely hindered the development of global livestock industries. This review systematically summarizes the pathogenic mechanisms and prevention and control techniques of *Clostridium novyi* type B, and conducts a comparative evaluation of the principles, advantages, and limitations of associated vaccines. The analysis aims to provide both theoretical foundations and methodological insights for advancing mechanistic studies and optimizing prevention practices against *Clostridium novyi* type B infections.

Keywords: *Clostridium novyi* type B; Tcn α ; infectious necrotic hepatitis; pathogenesis; vaccine research

* **Corresponding authors:** ZHANG Yizhi, E-mail: 17600850317@163.com; ZOU Ming, E-mail: zoudnet@163.com

收稿日期: 2025-05-08

基金项目: 兽药行业公益性重点专项(GY202403); 山东省牛产业技术体系项目(SDAIT-09-11)

作者简介: 魏 铭, 硕士生, 主要从事兽用生物制品检验技术研究, E-mail: 2302314146@qq.com; Tel: 010-62103633

* 通信作者: 张一帜, 主要从事兽用生物制品检验技术研究, E-mail: 17600850317@163.com; 邹 明, 主要从事兽医药理与毒理学研究, E-mail: zoudnet@163.com

诺维梭菌(*Clostridium novyi*, *C. novyi*)是一种厌氧、产芽胞的革兰阳性细菌,不产生荚膜,有周鞭毛,广泛存在于土壤和粪便中,能够产生强效的外毒素,导致多种动物疾病,如坏死性肝炎、气性坏疽、肌炎和猝死症等^[1-2]。除严格的厌氧条件外,对于营养的要求也十分苛刻^[3]。该菌在血琼脂上菌落较小,呈扁平、粗糙或根状,半透明,48~72 h内呈现 β 溶血,直径为1~5 mm^[4]。根据产生毒素种类的不同,将*C. novyi*分为A、B、C、D型^[5]。A型菌主要产生 α 、 γ 、 δ 、 ϵ 四种外毒素,可引起人与动物的气性坏疽^[6];B型菌主要产生外毒素 α 、 β 和 ζ ,引起绵羊黑疫和马坏死型肝炎^[7];C型菌不产生外毒素,对实验动物无致病性^[8];D型又称为溶血梭菌(*Clostridium haemolyticum*),主要产生 β 毒素,可引起犊牛血红蛋白尿^[1,9]。*C. novyi* type B的致病性主要由 α 毒素(*C. novyi* alpha-toxin, Tcn α)介导^[10]。而Tcn α 由噬菌体编码决定,编码Tcn α 的噬菌体对A、B、C和D四种菌型都有感染性,即当C型诺维梭菌受到这种噬菌体感染后可转变为产生Tcn α 的A型诺维梭菌,同理,D型诺维梭菌也可转变为*C. novyi* type B^[8]。

*C. novyi*作为典型的条件性致病菌,其引发的感染常呈现地区性流行或散发性流行特征。其中,阴暗潮湿、通风不畅的环境尤为适宜该菌增殖,这使得阴雨连绵的季节及处于通风不良舍饲环境中的动物更易发病^[7]。*C. novyi*主要感染对象为牛、绵羊,但猪、犬和马近年也有报道,主要经消化道传播^[7,11-13]。2017年,新疆昌吉州某种羊场的226只陶赛特母羊突然发病、急性死亡,共死亡2~4岁母羊22只,发病率为9.7%,病死率达100%,最后确诊为诺维梭菌感染^[14]。2015年,某养殖场存栏的90只山羊中,有29只因感染诺维梭菌而发病,由于病程短,死亡率高,就诊时已死亡12只,死亡率为41.38%^[15]。施曾斌等^[16]对26个繁殖母猪场猝死率进行研究,发现年度总体死亡率接近或者低于5%指标的仅有3个猪场,平均水平为8.19%,一个猪场死亡率高达13%。1977年美国俄勒冈州道格拉斯县的436头牛疑似传染性坏死性肝炎(黑疫),在2周内导致79头牛死亡,之后经过样品的分离鉴定确认为诺维梭菌感染引起^[17]。B型诺维梭菌发病迅速、致死率高且防控难度大,成为威胁养殖业的重要病原体,由于该病缺乏快速有效的检测手段,其实际发病情况可能更严重。本文对*C. novyi* type B相关研究进行总结与讨论,旨在为*C. novyi*

type B的机制研究和防控实践提供基础支撑和思路启发。

1 致病机制

Tcn α 作为大型梭状芽胞杆菌毒素(large clostridium toxins, LCTs)家族的重要成员,是*C. novyi* type B的主要毒力因子^[10],其毒素结构由重复寡肽结构域(combined repetitive oligopeptides, CROPs)、易位和受体结合结构域(delivery and receptor-binding domain, DRBD)、半胱氨酸蛋白酶结构域(cysteine protease domain, CPD)和糖基转移酶结构域(glucosyltransferase domain, GTD)组成^[18]。这些结构域在感染触发及不同阶段细胞毒性作用的介导中至关重要,产生这些强效外毒素的菌株可引发严重的毒素感染。LCTs又称梭菌糖基化毒素(clostridial glycosylating toxins, CGTs)可通过破坏质膜改变宿主细胞的胞内成分来发挥作用,分子量较大,为200~308 ku,虽然LCTs各毒素存在差异,但作用机制相似且结构同源,序列同源性可达到30%~77%^[18]。其中,CROPs由多个重复单元组成,即短重复序列(SRs)和长重复序列(LRs),SRs通常含19~24个氨基酸,LRs含29~31个氨基酸^[18]。根据SRs和LRs的数量不同,该结构域的分子量可在40~100 ku变化,且与其他LCTs的序列相似性为31%~75%^[19],功能包括辅助全毒素折叠、稳定蛋白质构象,以及抑制CPD介导的自加工^[20];DRBD是一个约含1 000个氨基酸的结构,分子量约123 ku,与其他LCTs的序列相似性为28%~79%,DRBD的功能包括与靶细胞表面受体结合,启动促进毒素进入宿主细胞^[19];CPD包含组氨酸、半胱氨酸和天冬氨酸残基,在LCTs家族中的序列相似性为32%~87%,CPD可能影响GTD的酶促效率,也可通过改变GTD与细胞底物的接触机会来增强毒性^[19];GTD利用UDP-葡萄糖或UDP-N-乙酰葡萄糖胺(UDP-N-GlcNAc)作为底物,通过糖基化反应修饰GTPase^[21],其结构域含约540个氨基酸,与其他LCTs的序列相似性为34%~85%,功能包括对宿主细胞中多种Rho和Rac家族GTP酶进行糖基化修饰^[19,22]。

C. novyi type B产生的芽胞能帮助其抵御不利的环境条件,在体内一般潜伏于肝脏的Kuffer细胞中,当肝脏因吸虫或其他感染损伤形成的局部缺氧且营养充足环境可促使芽胞萌发并产生毒素^[7]。

Tcn α 的C端通过识别宿主细胞表面的硫酸化糖胺聚糖(sulfated glycosaminoglycans,GAGs)和低密度脂蛋白受体(low-density lipoprotein receptor,LDLR)^[23],利用内吞作用进入细胞的酸性囊泡中,酸性条件使Tcn α 发生构象变化,Tcn α 的GTD和CPD从囊泡转移到胞质中^[21]。CPD通过自催化切割,从而释放出GTD^[24-25]。GTD通过对RhoA和Rac等蛋白家族成员的Thr-37位点进行糖基化修饰使其失活^[26],导致下游信号通路受到抑制,从而影响肌动蛋白细胞骨架的调节,最终导致细胞骨架解体、细胞圆缩并发生程序性死亡^[18,27](图1)。*C. novyi* type B引发特征性的病理变化表现为急性坏死性肝炎,同时伴有血管内皮损伤、水肿和败血症等症状,最终导致发病动物急速死亡^[28]。由于毒素介导的血管损伤

导致局部组织严重充血,感染部位呈现特征性的暗黑色外观,故称为“黑疫”^[29]。

β 毒素也是*C. novyi* type B重要的毒力因子,本质为磷脂酶C(PLCs),其毒性取决于C端结构域与宿主细胞膜中底物的相互作用^[7]。与Tcn α 的释放机制相似,*C. novyi* type B潜伏于肝脏的Kuffer细胞中,当肝脏受到损伤后产生的缺氧环境可促使*C. novyi* type B释放 β 毒素,有研究表明矿物质磷的缺乏和激素IGF-I含量的变化也会诱导 β 毒素的释放^[30]。 β 毒素主要通过水解细胞膜上的卵磷脂,产生磷酸胆碱和甘油二酯,为细菌繁殖提供营养^[7]。这一过程导致宿主的肝细胞和红细胞裂解,毛细血管内皮受损,最终引发坏死性肝炎和血红蛋白尿等多种急性病症^[31-32]。

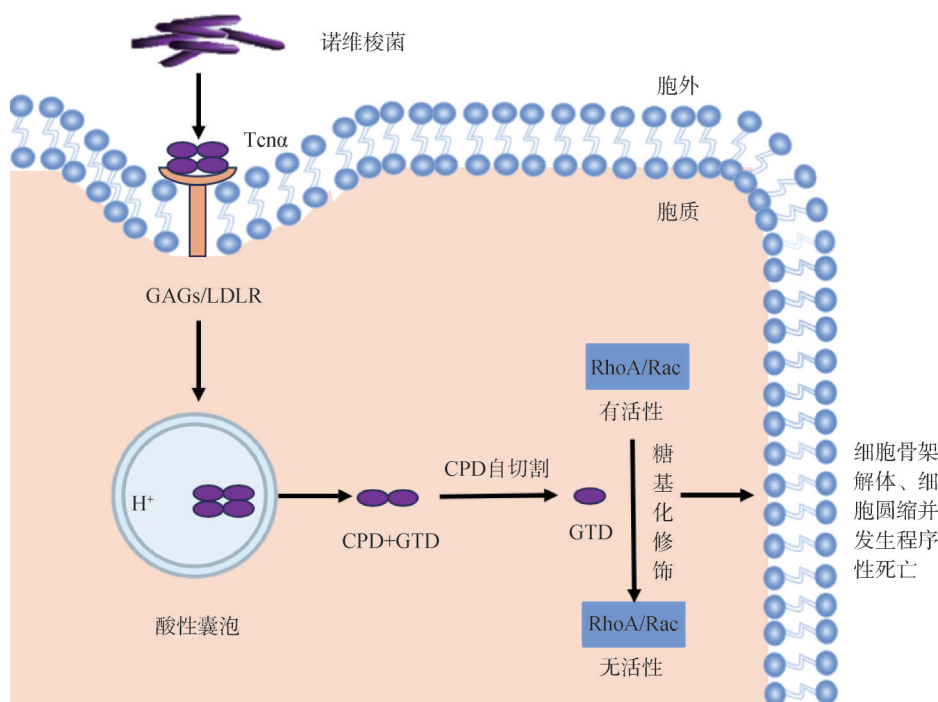


图1 诺维梭菌Tcn α 细胞毒性作用过程

Fig. 1 Cytotoxic mechanism of Tcn α from *Clostridium novyi*

2 防治

2.1 治疗

诺维梭菌病的治疗要遵循“早干预、重预防”的原则,急性爆发期以高免血清中和毒素为核心,联合抗生素控制细菌增殖,如:针对患病动物,首先紧急肌肉注射诺维梭菌抗血清10 mL,随后肌肉注射160万IU青霉素注射液5~10 mL,每日2次抗生素,连续给药3 d^[33]。对于未发病动物(如羊)每只皮

下注射羊梭菌干粉五联苗(羊快疫、羊肠毒血症、羊猝狙、羊黑疫、羔羊痢疾)5 mL,保护期一般可达到半年^[34]。同时,圈舍定期使用2%氢氧化钠溶液进行消毒,料槽和饮水器使用30%的漂白粉水溶液进行消毒,粪便发酵、动物尸体无害化处理等干净的环境都有利于诺维梭菌病的防控^[33]。

2.2 肝吸虫的清除

*C. novyi*的感染常与肝吸虫有关,控制吸虫感染对于预防“黑疫”至关重要,预防措施包括每年至

少进行二次定期驱虫,如在春秋两季、多雨期、水灾过后及动物低月龄期间精准开展,同时,限制动物进入湖泊、池塘等易感染吸虫的高危水源区域也十分重要。药物驱虫策略为按 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 口服丙硫苯咪唑,3 d 后再按 $0.05 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量皮肤注射碘硝酚以巩固疗效^[34]。同时,可在春末夏初喷洒 0.01% 硫酸铜、投放水禽等方式灭螺阻断中间宿主,降低发病风险。

2.3 疫苗

由于诺维梭菌病发病迅速,病程短,通常伴有大量毒素的产生,未及时治疗动物就已经死亡,故抗生素治疗对于已发病动物作用有限,使得定期接种疫苗成为控制梭菌感染的重要环节^[35]。我国常采用全菌灭活疫苗预防本病,国外通常用类毒素多联苗或者全菌多联苗进行预防接种^[36],以下将针对 *C. novyi* 的不同种类疫苗及相关研究进行汇总(表1)。

2.3.1 类毒素疫苗 通过发酵罐大规模培养 *C. novyi* 菌株,提取并用甲醛灭活毒素,再添加铝胶佐剂制备菌体类毒素单价或多价疫苗^[11,37]。Amimoto 等^[11]将 *C. novyi* type B 类毒素疫苗对豚鼠接种两次且每次计量均 $\geq 4 \mu\text{g}$,并通过 Vero 细胞毒素中和试验测定抗 Tcn α 抗体效价,结果显示所有攻击前抗体效价 $\geq 10 \text{ U}$ 的豚鼠均存活。Rossi 等^[38]针对多价苗的研究表明,在第二次免疫接种后的 90 d 内可检测到抗体效价,随后逐渐下降,至 180 d 降至无法检测的水平,不满足市售所规定的第二次接种后仍有一年保护期的条件。类毒素疫苗可让宿主产生相应毒素的抗体并增强体液免疫,有效且安全,但未来如何增强免疫效果并减少不良反应成为待解决的问题^[11]。

2.3.2 全菌灭活疫苗 目前,我国主要采用全菌灭活疫苗,使用免疫原性良好的 *C. novyi* 接种适宜的培养基培养,将培养物经甲醛溶液灭活脱毒后,再用硫酸铵提取,经过冷冻真空干燥制成单价或多价疫苗。常用的疫苗包括:羊黑疫干粉灭活疫苗,羊黑疫、快疫二联灭活疫苗,羊梭菌病多联干粉灭活疫苗^[39]。李生庆等^[40]研制的羊羔疫苗苗试验中使用 0.1 mL 全菌灭活疫苗免疫家兔 21 d,可抵抗 200 倍家兔 MLD 毒素的攻击,是现用疫苗的 2 倍,0.1 mL 家兔免疫血清可中和 300 倍小鼠 MLD 的毒素,是现用疫苗的 3 倍,羊免疫 14 d,血清 0.1 mL 可中和 400 倍小鼠 MLD 的毒素,180 d 时血清 0.1 mL

可中和 50 倍小鼠 MLD 的毒素,用此疫苗免疫家兔制备的抗血清每 1 mL 可中和 160 000 倍小鼠 MLD 毒素。在全菌灭活多价疫苗方面,常与诺维梭菌组合的细菌主要有气肿疽梭菌(*C. chauvoei*)、腐败梭菌(*C. septicum*)、溶血梭菌(*C. haemolyticum*)、索氏梭菌(*C. sordellii*)、产气荚膜梭菌 C 型及产气荚膜梭菌 D 型(*C. perfringens* types C&D)、破伤风梭菌(*C. tetani*)、牛摩拉菌(*Moraxella bovis*)和多杀性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)等。多价疫苗目前仍面临的问题是优化抗原配比与接种策略,以减少抗原竞争增强持续时间^[35]。

2.3.3 基因工程疫苗 基因工程疫苗(GELV)即通过现代分子生物学技术(如基因克隆、重组 DNA 技术、蛋白质工程等)对病原体的抗原基因进行改造、重组或表达,从而制备的疫苗。Ashoori 等^[41]针对 *Clostridium haemolyticum* 的 ϵ 毒素和 *C. novyi* type B 的 Tcn α ,通过计算机辅助筛选高免疫原性的 B 细胞和 T 细胞表位,设计了一种名为重组融合蛋白 D(rFPD)的融合蛋白疫苗,为后续疫苗和实验研究奠定了基础。有研究评估产气荚膜梭菌 NetB 基因类毒素(W262A 突变体)对禽类坏死性肠炎(NE)的免疫保护效果,结果显示 W262A 组与对照组的 NE 阳性率分别为 11% 和 48%,表明该基因工程疫苗对禽类坏死性肠炎有效^[42]。Lancto 等^[43]成功构建了一种重组非细胞溶解型产气荚膜梭菌 Tcn α (NCAT)多肽疫苗,选用 3 日龄雏鸡建立动物模型,随机分为五组,以 5 周为间隔进行两次 0.2 mL 剂量的免疫接种。攻毒试验采用 $3.2 \times 10^7 \text{ CFU}$ 对数生长期产气荚膜梭菌进行皮下注射,结果显示:各疫苗组的保护率达 78%~95%,显著高于空白对照组的 48%。Rodrigues 等^[19]通过免疫信息学与结构生物学分析,提出解析 LCTs 的结构与作用机制,针对 CROPs、GTD 等结构域为核心的重组抗原设计策略,聚焦高免疫原性区域并结合佐剂创新提升免疫效果。研究为兽用抗梭菌疫苗提供了理论基础与技术路径,推动疫苗升级。

2.3.4 纳米佐剂疫苗 纳米佐剂疫苗即将纳米颗粒直接作为免疫刺激剂,或将抗原成分与纳米颗粒相结合,形成免疫刺激与抗原递送相结合的复合体系,常被用于增强抗原递送效率。Felix 等^[44]将水油纳米乳剂包裹灭活的 Tcn α 并攻击小鼠进行评估,接种纳米佐剂疫苗的小鼠在致死剂量($157 \text{ LD}_{50} \cdot \text{g}^{-1}$)攻击下延长了存活时间即 LT_{50} 从对照组 20 h 延长

至 56 h, 但仅部分保护(40% 存活), 未引发不良反应。在一项使用壳聚糖的纳米颗粒为佐剂的诺维梭菌疫苗研究中, 间隔三周对兔进行 2 次免疫, 并在

二次免疫后 14 d 进行攻毒, ELISA 检测、临床检查及剖检表明壳聚糖佐剂疫苗组效果提高了 2~3 倍且安全无副作用^[45]。

表 1 诺维梭菌病各种类疫苗的对比

Table 1 Comparison of different vaccines against *Clostridium novyi*

疫苗种类 Types of vaccines	优点 Advantage	缺点 Disadvantage	产品实例 Product examples
类毒素疫苗 Toxoid vaccine	安全、稳定, 适用于大规模应用 ^[46]	免疫原性有限, 需频繁加强免疫 ^[46]	① 水肿梭菌疫苗 ^[47] ② 猪大肠杆菌病、C 型产气荚膜梭菌病、诺维梭菌病三联灭活疫苗(喜易胜)
全菌灭活疫苗 Whole bacterial inactivated vaccine	稳定、易生产, 便于运输储存	安全性低, 免疫原性有限, 需多次免疫 ^[46]	① 羊黑疫干粉灭活疫苗 ② 羊黑疫、快疫二联灭活疫苗 ③ 羊梭菌病多联干粉灭活疫苗
基因工程疫苗 Genetically engineered vaccines	无毒、可高产、稳定性和靶向性强	成本高、周期长, 不溶性蛋白的生产过程耗时且繁琐	rFPD ^[41]
纳米佐剂疫苗 Nano-adjuvant vaccine	突破传统佐剂限制, 可延缓抗原释放, 增强细胞或体液免疫应答, 减少接种次数	工艺复杂、成本高	B 型诺氏梭菌 Tcnα 纳米佐剂疫苗 ^[44]

3 问题与展望

C. novyi type B 作为一种具有重要研究价值的病原菌, 相较于国际研究进展, 国内对其致病机制研究和诊断防控技术研发仍显滞后, 相关研究文献也较为有限。*C. novyi* 针对癌症的治疗成为近些年研究热点, 对患癌动物静脉注射或瘤内注射诺维梭菌安全株(*C. novyi*-NT)后, *C. novyi*-NT 芽胞随血液循环或直接到达肿瘤, 选择性地在肿瘤缺氧区域萌发, 形成营养型细菌, 通过直接溶瘤和激活免疫的方式来对抗肿瘤细胞^[48], 在临床动物肿瘤模型中, 单次静脉注射 *C. novyi*-NT 芽胞能诱导显著的肿瘤坏死和消退, 约 25% 的动物症状得到缓解^[49]。诺维梭菌代表了一种利用肿瘤缺氧微环境和激活抗肿瘤免疫的创新性癌症治疗策略。然而, 毒性控制、递送效率、作用机制以及免疫疗法等的最佳联合方案仍需进一步研究^[50-51]。

在致病机制方面, Tcnα 的 CPD 通过糖基化修饰 Rho 家族 GTP 酶导致细胞骨架解体及血管内皮损伤, 进而引发急性坏死性肝炎(黑疫), 证实了 Tcnα 在致病过程中发挥的主要作用^[26], *C. novyi* type B 的 β 毒素与 Tcnα 相似, 可裂解肝细胞和红细胞并损害毛细血管内皮^[32]。但该菌整体致病网络尚存疑问, 如 β 和 ζ 毒素在感染过程中与 Tcnα 的协

同作用以及芽胞的起始萌发机制尚不明确。

目前对于 *C. novyi* 的传统检测方法为细菌分离培养以及病料组织液攻毒实验动物, 存在效率低、稳定性差的缺点^[52]。该病原的检测技术研究有较好的应用前景, 如利用高通量测序、PCR 等方法特异性强、速度快、更适用临床和流行病学调查, 有望解决对于诺维梭菌病诊断的需求。

在疫病防控方面, 鉴于 *C. novyi* type B 感染常与肝吸虫病协同发生, 切断吸虫传播链可有效降低发病风险, 有研究表明蜂胶具有抗菌、抗寄生虫和免疫调节作用, 以解决对 *C. novyi* type B 传统药物的耐药性和副作用问题^[53]。但单一措施难以应对芽胞在环境中的广泛存在, 未来的研究应多聚焦在疫苗的研发创新。目前传统类毒素疫苗与全菌灭活疫苗的缺点为毒素产量不稳定、免疫持续期短、免疫程序复杂等。毒素产量不稳定主要与该菌培养基相关, 梭菌家族培养基的优化一直是梭菌研究的核心, 市场上 *C. novyi* 的培养基存在产毒量不稳定、成分复杂、成本高且存在生物安全隐患等问题^[54], 亟需研制无动物源性材料、质量可控、稳定性强、产毒量大的 *C. novyi* 疫苗生产用培养基。此外, 目前商品化 *C. novyi* 疫苗一般在 3~6 个月会出现抗体水平下降, 国外一些疫苗需要二次或多次免疫, 限制了应用效果^[38]。基因工程疫苗与纳米佐剂

疫苗等新型疫苗,通过提升抗原免疫原性和增强佐剂免疫反应两个角度出发,有效提升了疫苗的免疫效果,展现出靶向性强、安全性高的优势^[35],为解决传统疫苗局限性提供了新思路,有望助力诺维梭菌病的防控。

参考文献 (References):

- [1] ALVES M L F, FERREIRA R A, RODRIGUES R R, et al. *Clostridium haemolyticum*, a review of beta toxin and insights into the antigen design for vaccine development[J]. *Mol Immunol*, 2022, 148: 45-53.
- [2] MACLENNAN J D. The histotoxic clostridial infections of man[J]. *Bacteriol Rev*, 1962, 26: 177-276.
- [3] MOORE W B. Solidified media suitable for the cultivation of *Clostridium novyi* type B [J]. *J Gen Microbiol*, 1968, 53(3): 415-423.
- [4] BRAZIER J S, DUERDEN B I, HALL V, et al. Isolation and identification of *Clostridium* spp. from infections associated with the injection of drugs: experiences of a microbiological investigation team[J]. *J Med Microbiol*, 2002, 51(11): 985-989.
- [5] BETTE P, FREVERT J, MAULER F, et al. Pharmacological and biochemical studies of cytotoxicity of *Clostridium novyi* type A alpha-toxin [J]. *Infect Immun*, 1989, 57(8): 2507-2513.
- [6] WARRACK H. The toxins of *Clostridium oedematiens* (*C. novyi*) [J]. *J Gen Microbiol*, 1947, 1(1): 91-107.
- [7] NYAOKA A C, NAVARRO M A, BEINGESSER J, et al. Infectious necrotic hepatitis caused by *Clostridium novyi* type B in a horse: Case report and review of the literature [J]. *J Vet Diagn Invest*, 2018, 30(2): 294-299.
- [8] EKLUND M W, POYSKY F T, PETERSON M E, et al. Relationship of bacteriophages to alpha toxin production in *Clostridium novyi* types A and B [J]. *Infect Immun*, 1976, 14(3): 793-803.
- [9] 邱昌庆, 李英才, 高双娣, 等. 家畜溶血梭菌病[J]. 中国兽医科技, 1996, 26(4): 40-41.
- QIU C Q, LI Y C, GAO S D, et al. Hemolytic *Clostridium* disease in livestock [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*, 1996, 26(4): 40-41. (in Chinese)
- [10] BUSCH C, SCHÖMIG K, HOFMANN F, et al. Characterization of the catalytic domain of *Clostridium novyi* alpha-toxin [J]. *Infect Immun*, 2000, 68(11): 6378-6383.
- [11] AMIMOTO K, SASAKI O, ISOGAI M, et al. The protective effect of *Clostridium novyi* type B alpha-toxoid against challenge with spores in guinea pigs [J]. *J Vet Med Sci*, 1998, 60(6): 681-685.
- [12] RIBEIRO M G, SILVA R O S, PIRES P S, et al. Myonecrosis by *Clostridium septicum* in a dog, diagnosed by a new multiplex-PCR [J]. *Anaerobe*, 2012, 18(5): 504-507.
- [13] JEONG C G, SEO B J, NAZKI S, et al. Characterization of *Clostridium novyi* isolated from a sow in a sudden death case in Korea [J]. *BMC Vet Res*, 2020, 16(1): 127.
- [14] 王菊文, 韩 涛, 任 禾, 等. 羊黑疫的诊断与防治 [J]. 现代农业科技, 2018(3): 244-245.
- WANG J W, HAN T, REN H, et al. Diagnosis and control of sheep black disease [J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2018(3): 244-245. (in Chinese)
- [15] 邓广福. 山羊传染性坏死性肝炎的诊治 [J]. 当代畜牧, 2016(29): 60.
- DENG G F. Diagnosis and treatment of infectious necrotic hepatitis in goats [J]. *Contemporary Animal Husbandry*, 2016(29): 60. (in Chinese)
- [16] 施增斌, 张晨飞, 王士祥, 等. 猪诺维梭菌病的诊断及预防 [J]. 今日养猪业, 2019(3): 86-87.
- SHI Z B, ZHANG C F, WANG S X, et al. Diagnosis and prevention of *Clostridium novyi* infection in pigs [J]. *Pigs Today*, 2019(3): 86-87. (in Chinese)
- [17] KELCH W J, COLES B M, REYNOLDS G E, et al. Suspected infectious necrotic hepatitis (black disease) in Oregon cattle [J]. *J Am Vet Med Assoc*, 1977, 171(5): 431-432.
- [18] ORRELL K E, MELNYK R A. Large clostridial toxins: Mechanisms and roles in disease [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2021, 85(3): e00064-21.
- [19] RODRIGUES R R, ALVES M L F, BILHALVA M A, et al. Large clostridial toxins: A brief review and insights into antigen design for veterinary vaccine development [J]. *Mol Biotechnol*, 2024[2025-06-19].
- [20] ZHANG Y, HAMZA T, GAO S, et al. Masking autoprocessing of *Clostridium difficile* toxin A by the C-terminus combined repetitive oligo peptides [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 459(2): 259-263.
- [21] 房均蔓. 诺维梭菌 Tcn α 毒素蛋白的结构生物学研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2024.
- FANG J M. Structural biology study of *Clostridium novyi* Tcn α toxin protein [D]. Changchun: Jilin

- Agricultural University, 2024. (in Chinese)
- [22] JANK T, GIESEMANN T, AKTORIES K. Rho-glucosylating *Clostridium difficile* toxins A and B: new insights into structure and function [J]. *Glycobiology*, 2007, 17(4):15R-22R.
- [23] ZHOU Y, LI D, LUO J, et al. Sulfated glycosaminoglycans and low-density lipoprotein receptor mediate the cellular entry of *Clostridium novyi* alpha-toxin [J]. *Cell Res*, 2021, 31(8):935-938.
- [24] ARONOFF D M, KAZANJIAN P H. Historical and contemporary features of infections due to *Clostridium novyi* [J]. *Anaerobe*, 2018, 50:80-84.
- [25] POPOFF M R, BOUVET P. Clostridial toxins [J]. *Future Microbiol*, 2009, 4(8):1021-1064.
- [26] SELZER J, HOFMANN F, REX G, et al. *Clostridium novyi* alpha-toxin-catalyzed incorporation of GlcNAc into Rho subfamily proteins [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(41):25173-25177.
- [27] ORRELL K E, ZHANG Z, SUGIMAN-MARANGOS S, et al. *Clostridium difficile* toxins A and B: Receptors, pores, and translocation into cells [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2017, 52(4):461-473.
- [28] ARONOFF D M. *Clostridium novyi*, *sordellii*, and *tetani*: Mechanisms of disease [J]. *Anaerobe*, 2013, 24: 98-101.
- [29] NAVARRO M A, UZAL F A. Pathobiology and diagnosis of clostridial hepatitis in animals [J]. *J Vet Diagn Invest*, 2020, 32(2):192-202.
- [30] STOCKDALE C R, MOYES T E, DYSON R. Acute post-parturient haemoglobinuria in dairy cows and phosphorus status [J]. *Aust Vet J*, 2005, 83 (6) : 362-366.
- [31] MACFARLANE M G. The biochemistry of bacterial toxins; the lecithinase activity of *Clostridium haemolyticum* toxin [J]. *Biochem J*, 1950, 47 (3) : 267-270.
- [32] HAUER P J, YEARY T J, ROSENBUSCH R. Cloning and molecular characterization of the beta toxin (phospholipase C) gene of *Clostridium haemolyticum* [J]. *Anaerobe*, 2004, 10(4):243-254.
- [33] 曹茹欣. 猪诺维氏梭菌病的诊断与防治 [J]. 现代畜牧科技, 2016(2):130.
- CAO R X. Diagnosis and prevention of *Clostridium novyi* disease in pigs [J]. *Modern Animal Husbandry Science and Technology*, 2016(2):130. (in Chinese)
- [34] 李念, 江精华. 1例羊黑疫诊治 [J]. 畜牧与兽医, 2015, 47(1):150.
- LI N, JIANG J H. Diagnosis and treatment of one case of sheep black disease [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2015, 47(1):150. (in Chinese)
- [35] ABDOLMOHAMMADI K, ZAHMATKESH A. Vaccination against pathogenic clostridia in animals: a review [J]. *Trop Anim Health Prod*, 2021, 53 (2) : 284.
- [36] ZARAGOZA N E, ORELLANA C A, MOONEN G A, et al. Vaccine production to protect animals against pathogenic clostridia [J]. *Toxins*, 2019, 11(9):525.
- [37] TYTELL A A, LOGAN M A. Immunization of humans and animals with gas gangrene toxoids [J]. *J Immunol*, 1947, 55(3):233-244.
- [38] ROSSI A, MÓNACO A, GUARNASCHELLI J, et al. Temporal evolution of anti-*Clostridium* antibody responses in sheep after vaccination with polyvalent clostridial vaccines [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2018, 202:46-51.
- [39] 夏业才, 陈光华, 丁家波. 兽医生物制品学 [M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2018:542-544
- XIA Y C, CHEN G H, DING J B. Science of veterinary biologicals [M]. 2nd Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2018:542-54(in Chinese)
- [40] 李生庆, 张西云, 范玉霞, 等. 基于地方分离B型诺维氏梭菌的产毒试验及羊羔疫苗苗的研制 [J]. 青海畜牧兽医杂志, 2016, 46(4):10-14.
- LI S Q, ZHANG X Y, FAN Y X, et al. Test on toxin-producing based on local separation typeB's vickers clostridium and development of lambs plague vaccine [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2016, 46(4):10-14. (in Chinese)
- [41] ASHOORI N, RANJBAR M M, SCHIRHAGL R. In silico vaccine design: Targeting highly epitopic regions of *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin and *Clostridium novyi* type B alpha toxin for optimal immunogenicity [J]. *Computat Struct Biotechnol J*, 2024, 25:153-164.
- [42] FERNANDES D C S P, MOT D, BOKORI-BROWN M, et al. Protection against avian necrotic enteritis after immunisation with NetB genetic or formaldehyde toxoids [J]. *Vaccine*, 2013, 31 (37) : 4003-4008.
- [43] LANCTO C A, FOSTER L K, KROMM M M, et al. A noncytolytic α toxin recombinant protein protects turkeys against *Clostridium septicum* challenge [J]. *Avi Dis*, 2014, 58(4):566-571.
- [44] FELIX M K C, DEUSDARÁ T T, SANTOS L S S,

- et al. Inactivated alpha toxin from *Clostridium novyi* type B in nano-emulsion protect partially protects Swiss mice from lethal alpha toxin challenge [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):14082.
- [45] FATHI NAJAFI M, RAHMAN MASHHADI M, HEMMATY M. Effectiveness of chitosan nanoparticles in development of pentavalent clostridial toxoid vaccine in terms of clinical pathology elements and immunological responses [J]. *Arch Razi Inst*, 2020, 75 (3):385-395.
- [46] BAXTER D. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing [J]. *Occup Med (Lond)*, 2007, 57(8):552-556.
- [47] ARDEHALI M, DARAKHSHAN H, MOOSAWI M. Mass production and standardization of *Clostridium oedematiens* vaccine against black disease (infectious necrotic hepatitis) of sheep [J]. *Dev Biol Stand*, 1986, 64:137-140.
- [48] WANG L, WANG Q, TIAN X, et al. Learning from *Clostridium novyi*-NT: How to defeat cancer [J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(Suppl 1):S1-S6.
- [49] STAEDTKE V, ROBERTS N J, BAI R Y, et al. *Clostridium novyi*-NT in cancer therapy [J]. *Gen Dis*, 2016, 3(2):144-152.
- [50] FENG X, HE P, ZENG C, et al. Novel insights into the role of *Clostridium novyi*-NT related combination bacteriolytic therapy in solid tumors (Review) [J]. *Oncol Lett*, 2020, 21(2):110.
- [51] SINGH S, KIM G H, BAEK K R, et al. Anti-cancer strategies using anaerobic spore-forming bacteria *Clostridium*: Advances and synergistic approaches [J]. *Life*, 2025, 15(3):465.
- [52] EMADI A, POURBAKHS SA, FATHI NAJAFI M, et al. Combined molecular and biochemical identification of alpha toxin in local isolated *Clostridium novyi* from the sheep liver [J]. *Arch Razi Inst*, 2022, 77 (5):1769-1777.
- [53] FOUND E A, TOALEB N I, HASSAN S E, et al. Evaluation of the therapeutic effect of propolis on *Fasciola gigantica* and *Clostridium novyi* type B infections in sheep [J]. *Trop Biomed*, 2021, 38 (2) : 102-110.
- [54] 孟德志. 诺维氏梭菌的培养、鉴定方法的建立及其 α 毒素单克隆抗体和多克隆抗体的制备 [D]. 济南:山东农业大学, 2019.
- MENG D Z. The Establishment of culture and identification of *Clostridium novyi*, preparation of monoclonal antibodies and polyclonal antibodies against a toxin [D]. Jinan: Shandong Agricultural University, 2019. (in Chinese)

(编辑 白永平)