



## Prévalence de *Escherichia coli* entéropathogènes dans le lait non pasteurisé produit à Abidjan, Côte d'Ivoire

Adjéhi DADIE<sup>1\*</sup>, Désiré NZEBO<sup>1</sup>, Nathalie GUESSENND<sup>2</sup>, Etienne DAKO<sup>3</sup>  
et Mireille DOSSO<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Université d'Abobo-Adjamé, UFR des Sciences et Technologie des Aliments, Laboratoire de Biotechnologie et Microbiologie Alimentaire.

<sup>2</sup> Chargé de Recherche, Chef d'Unité de la Résistance Microbienne aux Antibiotiques, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup> Université de Moncton, Laboratoire de Biologie moléculaire et biotechnologie, ESANEF, Moncton, Canada.

<sup>4</sup> Université de Cocody, UFR des Sciences Médicales / Directeur, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

\* Auteur correspondant, E-mail: [thomasdadie@yahoo.fr](mailto:thomasdadie@yahoo.fr), Tél: (225) 01 87 97 17 / 20 30 42 79/ 20 30 43 21, Fax: 20 30 43 42

### RESUME

L'objectif de cette étude était de déterminer la prévalence de *Escherichia coli* entéropathogènes (ECEP) dans le lait non pasteurisé. Un total de 207 échantillons ont été analysés pour l'identification de *E. coli*. Les souches ont été caractérisées par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection des gènes *eaeA* et *bfp* et un test a été effectué sur lignée cellulaire Hep-2 pour la détermination des phénotypes d'adhésion caractéristiques. La prévalence des *E. coli* présentant des gènes de virulence dans le lait non Pasteurisé est de 3,4% (7 souches). La fréquence des ECEP typiques (*eaeA*, *bfp*) est de 1,2%. Les ECEP atypiques (*eaeA*+, *bfp*-) ont été révélés dans 1,6% des souches. Une adhésion localisée aux cellules Hep-2 a été observée chez 3 (43%) des souches possédant des facteurs de virulence. Le lait non Pasteurisé représente un facteur de risque de développement d'infection à ECEP chez les enfants consommateurs.

© 2010 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés:** *Escherichia coli*, ECEP, virulence, adhésion, cellules Hep-2.

### INTRODUCTION

*Escherichia coli* entéropathogènes (ECEP) est la première cause de diarrhées infectieuses bactériennes chez les nourrissons et les enfants d'âge inférieur à 5 ans (Nataro and Kaper, 1998; Donnenberg, 2005). L'importance épidémiologique des ECEP est attestée par de nombreuses données rapportées

particulièrement en Amérique du sud (Sarantuya et al., 2004), en Afrique (Okeke et al., 2000; Rappelli et al., 2005) et en Asie (Albert et al., 1995) où ces pathovars sévissent de façon endémique. Le mécanisme de pathogénicité ne fait pas intervenir l'excrétion de toxines. Mais il s'agit plutôt d'une invasion de la muqueuse intestinale grâce à des

© 2010 International Formulae Group. All rights reserved.

adhésines ou facteurs de colonisation (*fimbriae*), selon un model d'attachement-effacement, qui altère les microvillosités de la brosse intestinale (Demers et Sansonetti, 1998; Kaper et al., 2004). Il s'en suit une diarrhée qui, dans les formes les plus sévères, suscite une déshydratation par perte d'eau et d'électrolytes et une "dénutrition" qui peuvent être mortelles (Leclerc, 1993). La détection des ECEP dans les aliments, l'eau et les échantillons cliniques est basée sur la mise en évidence du plasmide d'adhésion EAF (ECEP adhérence factor) ou du gène de l'intimine (*eaeA*) et du gène *bfp* (bundle forming pilus). La procédure fait généralement appel à une réaction de polymérisation en chaîne (PCR) ou à l'épreuve *in vitro*, des souches sur lignée cellulaire Hela ou Hep-2 pour la mise en évidence de phénotype d'adhésion caractéristique (Nataro and Kaper, 1998 ; Germani and Le Bouguenec, 2008).

Parmi les aliments constituant le régime alimentaire des enfants, le lait et les produits laitiers occupent une place importante et par conséquent se présentent comme les principaux facteurs de risque des infections infantiles d'origine alimentaire (De Buyser et al., 2001). En Côte d'Ivoire, Karou et al. (2001) ont rapporté que 48,3% des crèmes glacées et sorbets vendus dans la rue sont impropres à la consommation, dont 34,2% des cas de non-conformité sont liés aux coliformes. De plus, l'étude de Dadié et al., (2000) a révélé la présence de *E. coli* présentant des facteurs de virulence dans certains produits laitiers. Mais, on ne dispose pas assez de données sur l'importance des *E. coli* entéropathogènes dans le lait non pasteurisé de production locale, proposé à la vente dans quelques marchés et consommés selon des habitudes alimentaires, dans certaines familles en milieu rural ou urbain.

L'objectif de l'étude est de déterminer la prévalence de *E. coli* entéropathogènes,

dans le lait non pasteurisé de production locale à Abidjan, Côte d'Ivoire.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel d'étude et échantillonnage

L'étude est de type transversal et a été effectuée de décembre 2008 à avril 2009 sur du lait non pasteurisé de production locale. La désignation «lait non pasteurisé» concerne du lait de vache liquide fraîchement recueilli, n'ayant été l'objet de traitement visant la réduction de sa microflore. Les sites de prélèvement ont été identifiés selon l'importance et la disponibilité du lait. Il s'agit notamment, de l'abattoir de Port-Bouet (Sud-Est d'Abidjan), de Bingerville (Est d'Abidjan) et sur un site du trottoir longeant le chemin de fer à Abobo (Nord d'Abidjan). Un échantillon est constitué d'environ 400 ml de lait conditionné en matière plastique non alimentaire ou en flacon de 500 ml, ayant préalablement servi au conditionnement d'eau minérale. La taille de l'échantillon est de 207, dont 81 prélevés à Port-Bouet, 69 à Bingerville et 67 à Abobo. Les échantillons sont prélevés par la constitution des unités de 400 ml, à partir d'une forme de conditionnement en vrac, dans les périmètres d'exposition ou de vente précédemment cités. Ils sont transférés au laboratoire dans une enceinte réfrigérée (4 °C). Après une homogénéisation, des échantillons d'analyse de 100 ml ont été constitués, à partir desquels les analyses ont été effectuées dans un délai qui n'excédait pas 24 h.

### Numération de coliformes et identification de *E. coli*

Les coliformes thermotolérants ont été dénombrés après ensemencement sur milieu VRBL (Bio-Rad) 24 h à 30 °C selon la méthode AFNOR, V08-050. La numération des *E. coli* s'est effectuée sur milieu Rapid'*E. coli*2 (Bio-Rad, Paris, France) 24 h à 44 °C. L'identification de *E. coli* à partir de colonies caractéristiques obtenues sur milieu Rapid'*E. coli* a été réalisée selon la méthode classique

de bactériologie pour l'identification des *Enterobacteriaceae* (Le Minor et Richard, 1993). Une confirmation de l'identification a été effectuée par l'utilisation de galerie API 20E (bioMérieux, Paris, France). Les souches identifiées ont été codifiées, BgX, PbX ou AbX, selon qu'elles provenaient respectivement de Bingerville, Port-bouet ou Abobo; X représentant le numéro d'ordre. La proportion de souches de *E. coli* présumé (SED) par rapport aux coliformes dénombrés, a été calculée selon l'expression  $SED \times 100 / CTh.$ , dans laquelle, CTh représente la charge en coliformes thermo tolérants.

#### Détection de facteurs de virulence par PCR

Pour la détection des gènes *eaeA* et *bfp*, une suspension de 200 µl de culture bactérienne de 24 h a été traitée à 100 °C pendant 10 minutes au bain marie et refroidie dans un bain de glace. La suspension résultant du choc thermique a été centrifugée à  $10^5$  g pendant 5 minutes. Un extrait de 100 µl du surnageant a été utilisé comme matrice d'ADN pour la détection des gènes de virulence. Les amorces utilisées sont consignées dans le Tableau 1. La réaction d'amplification des gènes *eaeA* et *bfp* a été effectuée par PCR multiplex, dans un mélange réactionnel de 25 µl constitué de tampon 10X (Bio-Rad), 1,5 mM de  $MgCl_2$ , 200 µM de chaque désoxynucléotide triphosphate (dNTP) (Ficher), 20 pmoles de chaque amorce (Sigma), 5 U/µl de Taq DNA polymérase (Bio-Rad, Paris, France) et 5 µl de la matrice ADN. L'amplification a été effectuée dans un thermocycleur type Perkins Elmer 9700 (Applied Biosystems, USA). Le programme d'amplification comprend une dénaturation initiale de 3 minutes à 94 °C et une phase cyclique répétée 30 fois. Chaque cycle est composé d'une dénaturation de 1min à 94 °C, d'une étape d'hybridation des amorces de 45 secondes à 56 °C et d'une étape d'élongation de 1 minute à 72 °C. La révélation des produits d'amplification a été effectuée sur gel d'agarose à 1,5% en présence de 0,5 µg/ml de bromure d'éthidium.

#### Phénotypes d'adhésion cellulaire des souches.

La méthode utilisée est celle de Vial et al. (1990). Les cellules pulmonaires du fibroblaste embryonnaire humain, cellules Hep-2 (ATCC: CCL 23) ont été utilisées et préparées de façon appropriée (Vial et al., 1990). Les cellules Hep-2 ont été cultivées 24 h à 37 °C dans un milieu Eagle modifié, Dulbecco (Gibco BRL, USA) contenant 10% de serum de veau fœtal en utilisant des plaques de 8 microcupules (Labtek, Scotts Valley, Calif), dont les lames en verre servent de paroi d'adhésion. La concentration cellulaire a été réduite afin d'obtenir un tapis cellulaire non confluent (40-60% de confluence), propice à l'étude du pouvoir d'adhésion. L'inoculum est une suspension obtenue par culture de chaque souche bactérienne à tester, dans 5 ml d'eau peptonée (Bio-Rad, Paris, France) contenant 1% de D-Mannose (inhibe l'adhésion due au pili de type 1). L'incubation est effectuée 18 h à 37 °C. L'épreuve est réalisée en inoculant 400 µl de suspension bactérienne à la préparation cellulaire. La plaque de cupules est ensuite incubée 3 h à 37 °C sous 5% de  $CO_2$ . Les cellules sont fixées au méthanol pur et coloré durant 15-20 min dans du Giemsa (5%). La lecture est réalisée au microscope optique, par immersion et au grossissement X100. Seuls les phénotypes d'adhésion observés sur au moins 40% des cellules ont été considérés. La lecture a consisté à apprécier et distinguer l'absence d'adhésion, d'un phénotype d'adhésion de type localisé (AL), de type diffus (AD) ou de type aggrégatif (AA).

#### Statistiques

Les différentes variables ont été comparées en utilisant le test du Chi-carré et le test de précision (exactitude) de Fischer (Armitage and Berry, 1987)

## RESULTATS

### Charge en coliforme et prévalence d'espèces virulentes

Les charges en coliforme thermotolérants du lait non pasteurisé étaient de  $1,6 \cdot 10^4$  UFC/ml pour le lait prélevé à Bingerville, de  $8,7 \times 10^3$  UFC/ml pour le lait de Port-Bouet et de  $2,8 \cdot 10^4$  UFC/ml pour celui d'Abobo (Tableau 2). La charge en coliformes thermotolérants est relativement plus élevée dans le lait d'Abobo que dans celui des deux autres sites vente ( $p < 0,02$ ). Au total, la charge du lait en souches présumées *E. coli* (colonies caractéristiques dénombrées) est de  $1,8 \times 10^3$  UFC/ml, parmi lesquelles 253 ont été effectivement identifiées. La proportion de *E. coli* (présumé) parmi les coliformes isolés était de 10,6%. Au total, 7 (2,7%) souches possédant des facteurs de virulence ont été détectées parmi les souches de *E. coli* identifiées. La prévalence dans le lait était de 3,4% dont 2(2,9%) dans le lait de Bingerville, 4(4,9%) dans le lait de Port-Bouet et 1 (1,5%) dans celui d'Abobo.

### Fréquence des facteurs de virulence

Au niveau des 7 souches potentiellement virulentes, le gène *eaeA* qui code pour une intimine ou facteur d'attachement-effacement, a été détecté chez 6 (85,7%) *E. coli*. Quant au gène *bfp* qui contrôle l'adhésion cellulaire par les pili, il a été mis en évidence chez 3 (14,3%) souches de *E. coli*. L'association des deux facteurs de virulence caractéristiques des ECEP typiques a été observée chez 3 (43%) souches. Dans les autres cas (ECEP atypiques), soit que *eaeA* a été uniquement détecté (sans *bfp*) ou alors *Bfp* (sans *eaeA*).

### Phénotypes d'adhésion cellulaire

Le phénotype d'adhésion localisé caractéristique des ECEP a été observé pour les souches possédant cette propriété. Il s'agit des souches Bg31, Pb26 et Pb77. Trois souches, notamment Bg14, Pb11 et Ab39, bien que possédant au moins un facteur de

virulence caractéristique des ECEP, n'adhèrent pas aux cellules Hep-2 (Tableau 3). La souche Pb71 qui possède le gène *bfp*, exprime un phénotype d'adhésion diffus qui est plutôt une propriété de souche ECPAD (*E. coli* aux propriétés d'adhésion diffuse). En tenant compte de la présence de facteur de virulence et l'expression de phénotype d'adhésion typique aux ECEP, quatre souches (43%) sur 7 détectées peuvent être considérées comme des ECEP atypiques.

## DISCUSSION

Des taux anormalement élevés de coliformes ou de *E. coli* sont parfois responsables de la non-conformité des aliments de rue tel que rapportés par plusieurs auteurs (Karou et al., 2001; Garin et al., 2002; Mensah et al., 2002). Dans le cadre de cette étude, les charges moyennes en coliformes thermotolérants et en *E. coli* du lait non pasteurisé sont supérieures aux valeurs normatives qui sont respectivement de  $10^2$  UFC/ml et 10 UFC/ml (DGAL, 2001). Le lait non pasteurisé analysé ne doit donc être consommé en l'état parce que qualitativement non conforme. La contamination du lait par des coliformes peut avoir une origine fécale relevant de bovins, une contamination manu portée liée aux éleveurs, aux trayeurs ou une origine tellurique, car la denrée est généralement exposée sur le trottoir sans protection adéquate.

Mais l'évaluation de l'exposition de la population à des *E. coli* entérovirulents, nécessite la mise en évidence chez les souches de facteurs de virulence, car les méthodes bactériologiques conventionnelles ne permettent pas de distinguer les souches commensales avirulentes, des espèces potentiellement pathogènes (Le Minor et Richard, 1993; Bekal et al., 2003). Notre étude a permis de révéler que 10,6% des coliformes thermotolérants isolés de lait non pasteurisé sont des *E. coli* et dans 2,7% des cas, les souches de *E. coli* isolées possèdent des facteurs de virulence caractéristiques des

**Tableau 1:** Séquences d'amorces utilisés et taille de l'amplicon généré par l'amplification génique PCR.

Gènes	Séquences d'amorces (primers)	Taille (pb)	Références
<i>eaeA</i>	eaeA5'-CACACGAATAAACTGACTAAAATG.3' eaeA5'-AAAAACGCTGACCCGCACCTAAAT-3'	3 76	Svenungsson et al. (2005)
<i>bfp</i>	bfp f- 5'-TTCTTGGTGCTTGCGTGTCTTTT-3' bfp r'-5'-TTTTGTTTGTGTATCTTTGTAA-3'	3 67	Yatsuyanagi et al. (2002)

**Tableau 2:** Charge en coliformes et prévalence de ECEP dans le lait non pasteurisé.

Origine	Effectif (Ech.)	Charge moyenne en Cth. (UFC/ml)	<i>E. coli</i>		ECEP	Prévalence ECEP (%)
			SED (UFC/ml)	SEI		
Bingerville	69	1,6.10 <sup>4</sup> ± 10 <sup>3</sup>	3,7.10 <sup>2</sup>	88	2	2,9
Port-Bouet	81	8,7. 10 <sup>3</sup> ± 5.10 <sup>2</sup>	6,8.10 <sup>2</sup>	91	4	4,9
Abobo	67	2,8.10 <sup>4</sup> ± 2.10 <sup>3</sup>	4,9.10 <sup>2</sup>	74	1	1,5
Total	207	1,7.10 <sup>4</sup>	1,8.10 <sup>3</sup>	253	7	3,4

Ech.: échantillon; Cth: coliformes thermotolérants ; ECEP: *Escherichia coli* entéropathogène; UFC: unité formant colonie; SED : souches de *E. coli* dénombrées (colonies présomptives); SEI : souches de *E. coli* effectivement identifiées.

**Tableau 3:** Facteurs de virulence et phénotypes d'adhésion cellulaire des *E. coli*.

Référence des souches	Source	ECEP		Phénotype d'adhésion
		<i>eaeA</i>	<i>bfp</i>	
Bg14		<i>eaeA</i>		NA
Bg31	Bingerville	<i>eaeA</i>	<i>Bfp</i>	AL
Pb11		<i>eaeA</i>		NA
Pb26	Port-Bouet	<i>eaeA</i>	<i>bfp</i>	AL
Pb71			<i>bfp</i>	AD
Pb77		<i>eaeA</i>		AL
Ab39	Abobo	<i>eaeA</i>		NA

NA: non-adhésion; AL: Adhésion de type localisé; AA: adhesion de type agrégatif; AD: Adhésion de type diffus ; *eaeA*: gène d'entéropathogenicité de type attachement-effacement ; *bfp*: gène contrôlant l'adhésion au moyen de pili (bundle forming pilus).

ECEP. Ces résultats confirment, au-delà du taux élevé de germes, un risque d'infection à *E. coli* entéro-pathogènes pour le consommateur en particulier les enfants. En effet, le prototype des agents des gastroentérites infantiles à *E. coli* est représenté par *E. coli* entéro-pathogènes (ECEP) (Nataro and Kaper, 1998). Les ECEP constituent selon plusieurs études, la cause première des diarrhées chez les nourrissons et les enfants de moins de cinq (5) ans tel que révélés au Brésil (Sarantuya et al., 2004), au Nigeria (Okeke et al., 2000), en Inde (Bhan et al., 1989), au Bangladesh (Albert et al., 1995).

La prévalence de *E. coli* entéro-virulents dans le lait non pasteurisé étudié est relativement faible. Un tel résultat traduit apparemment, une moindre exposition de la population infantile à des *E. coli* virulents. Cependant, on sait que le gène *eaeA* peut être hébergé également par des ECEP atypique ou ATEC et surtout par les *E. coli* entéro-hémorragiques qui sont des organismes virulents à faible dose (ECEH) (Trabulsi et al., 2002). Les ECEH sont considérés comme la classe des pathovars les plus redoutés au regard des complications générées (syndrome urémique hémolytiques, SUH) chez les enfants infectés (Doyle and Schoeni, 1989). La détection de ECEH dans le lait et produits laitiers est rapportée par plusieurs auteurs (El safey and Abdoul-Raouf, 2003; El-Sharef et al., 2006). La caractérisation des souches chez lesquelles *eaeA* a été détecté seul (sans *bfp*) et la recherche de facteurs de virulence associés aux ECEH ou à d'autres classes diarrhéogènes contribueraient à estimer la prévalence réelle en *E. coli* entéro-virulents des produits analysés.

Le test qui consiste à éprouver les souches de *E. coli* sur des cellules permissives *in vitro* est un moyen souvent utilisé pour déterminer ou confirmer le pouvoir pathogène des souches (Vial et al., 1990 ; Veilleux et Dubreuil, 2005). En effet, l'étape première de l'expression de la pathogénicité est l'adhésion aux cellules épithéliales cibles selon un model

assez caractéristique, servant de base pour la classification des pathovars (Demers et Sansonetti, 1998). Dans le cadre de notre étude, 3 souches sur 7 ont présenté un type d'adhésion typique et attendu au regard des gènes de virulence (*eaeA*, *bfp*) qu'elles hébergent. Il s'agit d'une adhésion de type localisé aux cellules Hep-2 (Nataro and Kaper, 1998). Cependant les quatre autres souches, bien que possédant le gène *eaeA* ou *bfp* n'ont pas exprimé cette adhésion caractéristique. Le phénomène peut s'expliquer par le fait que chez des souches possédant le gène *eaeA*, le gène *bfp*, serait indispensable pour l'expression de l'adhésion localisée caractéristique (Nataro et al., 1998; Kaper et al., 2004). Ainsi, dans les deux situations observées dans cette étude au niveau des souches non adhérentes, soit qu'elles ne possèdent pas le gène *bfp*, soit que sa seule présence (sans *eaeA*) ne suffit pas pour exprimer l'adhésion localisée aux cellules Hep-2. Des souches chez lesquelles les facteurs de virulence des *E. coli* entéro-pathogènes ont été mis en évidence et qui présentaient des adhésions atypiques ont également été mis en évidence par Okeke et al. (2000) au Nigeria, Galane and Laroux (2001) en Afrique du sud et Dow et al. (2006) en Lybie. Nos résultats sont en accord avec ceux de Robins-Browne et al. (2004) qui ont montré que les souches de ECEP typique sont plus isolées chez l'homme que dans les aliments et chez l'animal.

En se basant sur la corrélation entre la présence de facteurs de virulence et l'expression du phénotype d'adhésion caractéristique, seules les 3 souches adhérentes aux cellules Hep-2 *in vitro*, peuvent être considérées comme potentiellement diarrhéogènes.

## Conclusion

Des déterminants de la pathogénicité, notamment des gènes de virulence et un phénomène d'adhésion cellulaire caractéristique des *Escherichia coli*

entéropathogènes ont été mis en évidence au niveau des souches isolées. Bien que la prévalence obtenue soit faible, le risque d'infection à *E. coli* entéropathogènes existe pour les consommateurs de lait non pasteurisé, en particulier les enfants. Par conséquent, le lait non pasteurisé doit être l'objet d'un traitement de préservation adéquat avant toute consommation pour réduire le risque d'infection à *E. coli* entéropathogènes et d'éventuels pathogènes de même écologie qui peuvent les accompagner.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Albert MJ, Faruque SM, Faruque AS, Neogi PK, Ansaruzzaman M, Bhuiyan NA, Akbar MS. 1995. Controlled study of *E. coli* diarrheal infections in Bangladeshi children. *J. Clin. Microbiol.*, **33**: 973-977.
- Armitage P, Berry G. 1987. Statistical methods in medical research. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England
- Bhan MK, Raj P, Levine MM, Kaper JB, Bhari N, Srivastava R, Koumar R, Sazawal S. 1989. Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with persistent diarrhea in a cohort of rural children in India, *J. Infect. Dis.*, **159**: 1061-1064.
- Bekal S, Brousseau R, Masson L, Prefontaine G, Fairbrother J, Harel J. 2003. Rapid identification of *Escherichia coli* pathotypes by virulence gene detection with DNA microarrays. *J. Clin. Microbiol.*, **41**: 2113-2125.
- Dadie A, Karou T, Adom N, Kette A, Dosso M. 2000. Isolation of enteric pathogenic agents in Côte d'Ivoire: *Escherichia coli* O157:H7 and enteroaggregative *Escherichia coli*. *Bull. Soc. of Pathol. Exot.*, **93**: 95-96.
- De Buyser M-L, Dufour B, Maire M, Lafarge V. 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *Int. J. Food. Microbiol.*, **67**: 1-17.
- Demers B, Sansonetti P. 1998. Mécanisme moléculaire des diarrhées bactériennes. *Med. Thérapeut. Pédiat.*, **1**(1): 14-24.
- Direction générale de l'alimentation (DGAL). 2001. Critères microbiologiques applicables aux aliments. (Deuxième version). DGAL/SDHA/N2001-8090
- Donnenberg MS. 2005. Enterobacteriaceae. In *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Mandell, Douglas, Bennett's (eds). Elsevier Churchill Livingstone, 2: Philadelphia; 2567-2586.
- Dow MA, Toth I, Maliksurveillance A, Herpays M, Nogrady N, Ghenghesh, Nagy B. 2006. Phenotypic and genetic characterization of enteropathogenic *Escherichia coli* (ECEP) and enteroaggregative *E. coli* (EAEC) from diarrhoeal and non-diarrhoeal children in Libya, *Comparative immunology, Microbiology and infectious Diseases*, **29**(2-3): 100-113.
- Doyle MP, Schoeni JL. 1989. Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis; *Appl. Env. Microbiol.*, **48**: 855-856.
- Galane PM, Le Roux M. 2001. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* isolated from young South African children with diarrhoeal diseases. *J. Health Popul. Nutr.* **19**: 31-38.
- Garin B, Aïdara A, Spiegel A, Arrive P, Bastaraud A, Cartel JL, Ben Aïssa R, Duval P, Gay M, Gherardi C, Gouali M, Karou G, Krüy SL, Soares L, Mouffok F. 2002. Multicenter study of street foods in 13 towns on four continents by the food and environmental hygiene study group of the international network of Pasteur and associated institutes. *J. Food. Protect.*, **65**(1): 146-152.
- Germani Y, Le Bouguéneq C. 2008. Diagnosis of human infection with diarrheagenic *Escherichia coli*. *Rev Francoph. Laborat.*, **400**: 67-76.

- Hamama A. 1989. Qualité bactériologique des fromages frais marocains. *Options Méditen-anéennes - Série Séminaires*, **6**: 223-227.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev.*, **2**: 123-140.
- Karou TG, Dadié AT, Bohoua LG, Assa R, Faye-Ketté YH, Dossso M. 2001. Salubrité des crèmes glacées et sorbets vendus sur la rue à Abidjan, en Côte d'Ivoire. *Microb Hyg. Ali.*, **13**(38): 42-50.
- Le Minor L, Richard C. 1993. *Méthodes de Laboratoire pour L'identification des Entérobactéries*. Institut Pasteur : Paris, France ; 217.
- Mensah P, Yebouah-Manu D, Owusu-Darko K, Ablordey A. 2002. Street foods in Accra, Ghana: how safe are they? *Bull. Health Organ.*, **80**(7): 546-554.
- El-Sharef N, Khalifa S, Ghenghesh Y, Abognah S, Gnan O, Amal R. 2006. Bacteriological quality of ice cream in Tripoli—Libya food control, **17**(8): 637-641.
- Nataro JP, Kaper JB. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, **11**: 142-201.
- Okeke IN, Lamikanra A, Steinru' CKH, Kaper JB. 2000. Characterization of *Escherichia coli* strains from cases of childhood diarrhea in provincial southwestern Nigeria. *J. Clin Microbiol.*, **38**: 7-12
- Paton AW, Paton JC. 1998. Detection and characterization of shiga toxigenic *E. coli* by using multiplex PCR assays for stx1, stx2, eaeA, enterohemorrhagic *E. coli* hly, rfbO11 and rfbO157. *J. Clin. Microbiol.*, **36**: 598-602.
- Rappelli P, Folgosa E, Solinas ML, Dacosta JL, Pisanu C, Sidat M, Melo J, Cappuccinelli P, Colombo MM. 2005. Pathogenic enteric *Escherichia coli* in children with and without diarrhoea in Maputo , Mozambique . *FEMS Immunol Med Microbiol.*, **43**(1): 67-72.
- Robins-Browne RM, Bordun A-M, Tauschek M, Bennett-Wood VR, Russell J, Oppedisano F, Lister NA, Bettelheim KA, Fairley CK, Sinclair MI, Hellard ME. 2004. Atypical enteropathogenic *Escherichia coli*: a leading cause of community-acquired gastroenteritis in Melbourne, Australia. *Emerg. Infect. Dis.*, **10**: 1797-1805.
- Sarantuya J, Nishi J, Wakimoto N, Erdene S, Nataro JP, Sheikh J. 2004. Typical enteroaggregative *E. coli* is the most prevalence pathotype among *E. coli* strains causing diarrheagolien children. *J. Clin. Microbiol.*, **42**: 133-139.
- Svenungsson B, Lagergren A, Ekwall E, Evengård B, Hedlund KO, Karnell A, Lofdahl S, Svensson L, Weintraub A. 2000. Enteropathogens in adult patients with diarrhea and healthy control subjects: a 1-year prospective study in a Swedish clinic for infectious diseases. *Clin. Infect. Dis.*, **30**: 770-778.
- Trabulsi LR, Keller R, Tânia A, Gomes T. 2002. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *Emerg. Infect. Dis.*, **8**(5): 508-527.
- Vial PA, Mathewson JJ, DuPont HL, Guers L, Levine MM. 1990. Comparison of two assay methods for patterns of adherence to HEp-2 cells of *Escherichia coli* from patients with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, **28**: 882-885.
- Veilleux S, Dubreuil D. 2005. Presence of *Escherichia coli* carrying the EAST1 toxin gene in farm animals. *Vet. Res.*, **37**: 3-13.
- Yatsuyanagi J, Saito S, Saito H, Miyagima Y, Amano K, Enomoto K. 2002. Characterisation enteropathogenic and enteroaggregative *Escherichia coli* isolate from diarrhoeal outbreaks *J. Clin. Microbiol.*, **40**(1): 294-297.