

Journal of Applied Biosciences 101:9576 – 9577

ISSN 1997-5902

Implication de souches de *Escherichia coli* productrices de shiga-toxines dans les épisodes de diarrhées chez des enfants du Sud-Bénin



Original submitted in on 29th January 2016. Published online at www.m.elewa.org on 31st May 2016 http://dx.doi.org/10.4314/jab.v101i1.1

RESUME

Objectif: Cette étude visait à déterminer les taux de détection des souches de Escherichia coli non-O157 en particulier les sérogroupes associés à la production de shiga-toxines au cours des diarrhées infantiles au Sud-Bénin.

Méthodologie et résultats: Pendant la période allant de Mai à Décembre 2015, 122 échantillons de selles diarrhéiques ont été collectés et analysés. En provenance de l'Hôpital de Zone de Suru-Léré et de l'Hôpital de Ménontin, ces échantillons ont servi à identifier l'étiologie de la diarrhée. A travers des tests d'identification suivis du test d'agglutination au Dry spot *E.coli* Seroscreen (Oxoid), *E. coli* a été particulièrement ciblé. Les patients avaient un âge compris entre 0 et 48mois, avec une prédominance de la classe d'âge 0 à 11mois (44,26%). Au total, 81 souches de *E. coli* (66, 39%) ont été identifiées. Le test d'agglutination au latex *E.coli* Serosreen a révélé la présence de 04 souches appartenant aux 06 sérogroupes d'*E.coli* non-O157 recherchés. D'autres espèces bactériennes ont été également isolées dans 35 échantillons (28,69%). Par ailleurs, 06 cas de parasitoses ont été notés dans la présente étude.

Conclusion et application des résultats :Ces résultats donnent une vue d'ensemble sur l'implication d'*E.coli* non-O157 producteurs de shiga-toxines dans les diarrhées infantiles au Bénin. Cela nécessite de poursuivre la présente étude pour confirmer la production de shiga-toxines des souches détectées par la biologie moléculaire.

Mots-clés. Escherichia coli non-O157; Shiga-toxines; test d'agglutination E.coli Seroscreen; Santé infantile

Implication of shiga toxin-producing *Escherichia* coli strains in children with diarrhea in southern Benin (West Africa)

ABSTRACT

Objective: The objective of this study was to determine the rate of detection of strains of *Escherichia coli* non-O157 serogroups particularly associated with the production of shiga toxin: O26, O91, O103, O111, O128. O145 and over the childhood diarrhea in Southern Benin.

Methodology and results: From May to December 2015, 122 stool diarrheal samples from patients received at Suru-Lere area hospital and Ménontinarea hospital were collected and analyzed. It was done to identify the etiology of diarrhea, especially *E.coli* by identification followed by agglutination test Dry spot *E.coli* Seroscreen (Oxoid). The patients had an age between 0-48months with a predominance of the age group 0-11months (44.26%). A total of 81 strains of *E. coli* (66, 39%) were identified. The latex agglutination test Serosreen *E.coli* revealed the presence of four strains belonging to the 6 non-O157 *E. coli* serogroups. Other bacterial species were also isolated in 35 specimens (28.69%). Furthermore, 6 parasitic cases were noted in this study.

Conclusion and application des results: These results give an overall picture on the implication of non-O157 shiga toxin- producing *E.coli* in children diarrhea in Benin. That requires to continue the present study to confirm the production of shiga toxin of the strains detected by molecular biology.

Keywords: Escherichia coli non-O157; Shiga toxin; agglutination test E.coli Seroscreen; Infantile health

INTRODUCTION

Les maladies diarrhéigues demeurent un véritable problème de santé publique mondial. Elles constituent une cause importante de morbidité et de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans en Afrique Sub-Saharienne (UNICEF/WHO, 2009; Boschi-Pinto et al., 2010). En Afrique, responsable de 4,2 millions de décès d'enfants de moins de 5 ans en 2008, la diarrhée a occupé la plus grande proportion (19%) de maladies devant la pneumonie (18%) et le paludisme (16%) (Black et al., 2010). En 2010, ce taux est passé à 12% pour les maladies diarrhéiques (Fischer et al., 2012). Parmi les agents pathogènes responsables de ces diarrhées, les bactéries représentent une grande proportion. Campylobacter spp, Salmonella spp et Escherichia coli sont les pathogènes le plus souvent mis en cause lors de ces infections (Gangnon, 2007). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, E.coli est reconnu chez l'homme comme une cause majeure de diarrhée bactérienne dans le monde. Les infections liées à cette bactérie demeurent un problème, surtout dans les pays en voie de développement. Elles représentent une préoccupation du fait de la diversité, du nombre de patients touchés et de l'augmentation de la résistance acquise à

certaines classes d'antibiotiques (Savoye, 2011). l'heure actuelle, les espèces d'E.coli productrices de shiga-toxines sont considérées comme des pathogènes émergents importants en santé publique notamment en raison des faibles doses infectieuses observées (Vimont et al., 2006). Ce sont principalement des bactéries pathogènes d'origine alimentaire qui provoquent des épidémies dans le monde (Currie et al., 2007 ; King et al., 2009). Le sérotype O157:H7 est le plus souvent mis en cause lors d'infections sporadiques ou d'épidémies (Bastien, 2007; Savoye. 2011) et ces souches sont souvent productrices d'une vérotoxine. Cependant, il faut noter que la prédominance du sérogroupe O157 observée depuis 1996 en France est moins marquée depuis le début des années 2000, avec une augmentation de la proportion de cas liés aux sérogroupes non-O157 (King et al., 2014). Il s'agit des sérogroupes O26, O91, O103, O111 et O145, qui sont de nos jours à l'origine d'épidémies à l'échelon international (The community summary, 2010). En Afrique, de nombreux cas d'infections à E. coli non-O157 ont été rapportés notamment au Nigéria (Okeke et al., 2003) et plus récemment en Égypte (Ghoneim et al., 2014). La situation du Bénin concernant ces sérogroupes n'est pas encore connue. Il est vrai que certains laboratoires nationaux ont aujourd'hui la capacité de réaliser une coproculture sur les milieux standards et d'identifier certaines espèces bactériennes pathogènes (Salmonella spp, Shigella spp, Vibrio cholerae). Mais à cause du manque de moyens appropriés des laboratoires de routine, des germes inconnus continuent de provoquer des diarrhées infantiles. C'est ainsi que l'identification de

certaines espèces telles que *Campylobacter spp* ou certains sérotypes d'*Escherichia coli* n'est pas faite en routine en raison de la non disponibilité des méthodes de recherche au Bénin. Les souches d'*E coli* non-O157 ne seraient-elles pas déjà présentes dans la nature du Bénin et par conséquent à l'origine de troubles digestifs méconnus et mal maîtrisés ? C'est ce questionnement qui a sous-tendu la présente recherche.

MATERIEL ET METHODES

Il s'est agi d'une étude prospective allant de Mai à Décembre 2015. La collecte des échantillons s'est effectuée dans les services de pédiatrie de l'Hôpital de

Zone de Ménontin et de l'Hôpital de Zone de Suru-Léré, situés dans la commune de Cotonou (Figure 1).

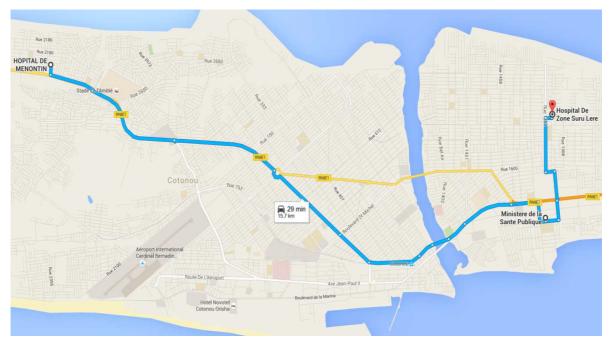


Figure1 : Localisation des deux hôpitaux dans la commune de Cotonou

Située au sud-Bénin, Cotonou est la ville la plus peuplée de la République du Bénin avec 678 874 habitants (INSAE, 2013). Le climat est de type subéquatorial avec l'alternance de deux saisons pluvieuses et deux saisons sèches. La pluviosité moyenne est de 1200 mm par an, avec une température moyenne annuelle variant de 26°C à 28°C et une humidité relative supérieure à 60% (Akoègninou, 2004). Les examens bactériologiques ont été réalisés au Laboratoire National de Santé Publique de Cotonou dans l'enceinte du Ministère de la Santé.

Matériel: Le matériel biologique a été constitué de 122 selles d'enfants remplissant les critères ci-après : *Critères d'inclusion*

- Enfant âgé de 0 à 15ans, sans distinction de sexe ou d'ethnie ;
- Enfant faisant la diarrhée ;
- Obtention du consentement éclairé des parents.

Critères d'exclusion : Tout enfant sous antibiothérapie il y a moins de deux semaines du jour du prélèvement a é été exclu de l'étude.

Des souches de la réserve de la section de Bactériologie Médicale du Laboratoire National du Ministère de la Santé ont été utilisées. Elles se composent d'une souche témoin d'E.coli ATCC 25922 et d'une souche d'E.coli O157 en provenance de l'Afrique du Sud. Cette dernière a été isolée d'un échantillon de selles reçu par ladite section dans le cadre d'une comparaison de résultats interlaboratoires.

Méthodes

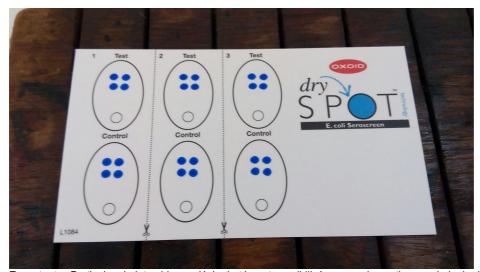
Collecte et transport des échantillons : Un formulaire de renseignements cliniques épidémiologiques a été rempli pour chaque sujet éligible. Les échantillons de selles fraîches ont été recueillis dans des pots pour coproculture au niveau des sites de prélèvement des deux formations sanitaires. Une fois collectées, les selles ont été systématiquement conservées dans le milieu de transport Cary-Blair. Deux écouvillonnages ont été réalisés par échantillon. Le nom du patient, le site de prélèvement, la date et l'heure de prélèvement ont été inscrits sur l'étiquette du dispositif. Les prélèvements ont été mis dans une glacière contenant des accumulateurs de froid et acheminés dans les 24 heures vers le Laboratoire National pour les tests bactériologiques.

Isolement de Escherichia coli: A l'aide du premier écouvillon, les examens microscopiques ont été d'abord réalisés: l'état frais et de l'état coloré. Un enrichissement de chaque échantillon de selles été ensuite réalisé dans 4mL de bouillon Trypto-Caséïne Soja plus Novobiocine à partir du second écouvillon. Après 24h d'incubation à 37°C à l'étuve, le bouillon d'enrichissement a été ensemencé parallèlement sur

gélose Eosine Bleu de Méthylène(EMB), sur gélose Mac Conkey Sorbitol additionnée de Cefixime-Tellurite (SMAC-CT). Les milieux ensemencés ont été ensuite incubés 24 heures, à 37°C à l'étuve. Les colonies obtenues sur les milieux ont fait l'objet d'une identification.

Identification de Escherichia coli : Cinq différentes colonies caractéristiques de E.coli ont été sélectionnées sur chaque milieu de culture et ont été identifiées. Un examen microscopique de contrôle à partir de la coloration de Gram a été d'abord réalisé sur chaque colonie caractéristique. Les colonies qui se sont révélées être des bacilles à Gram négatif ont été identifiées. Pour ce faire, ces colonies ont été chacune repiquées sur la gélose Mueller Hinton(MH). L'incubation a été réalisée à l'étuve à 37°C pendant 24h. A partir d'une colonie isolée obtenue sur chaque gélose MH, il a été recherché la production d'indole par la bactérie par la technique usuelle. Ensuite, la catalase et le cytochrome oxydase ont été recherchés sur la même colonie. Une confirmation de l'identité des souches a été enfin effectuée à l'aide du système de Galerie API 20^E (BioMérieux).

Sérogroupage des souches de *E.coli*: Les souches de *E.coli* identifiées ont été soumises à un test d'agglutination en utilisant le kit Dry spot *E.coli* Seroscreen (Oxoid) conformément aux instructions du fabricant. Ce kit est un kit unique pour la détection de 6 sérogroupes de *E.coli* non-O157: O26, O91, O103, O111, O128 et O145 qui sont les sérogroupes les plus fréquemment associés avec la production de vérotoxines (Figure 2).



Zone test: Particules de latex bleues déshydratées et sensibilisées avec des anticorps de lapin dirigés contre les sérogroupes d'*E.coli* mentionnés.

Zone contrôle : Particules de latex sensibilisées avec des globulines de lapin non réactives

Figure2: Carte test du kit Oxoid E.coli Seroscreen

Traitement des donnees : Les données enregistrées sur les fiches d'enquête ont été saisies à l'aide du

logiciel Excel 2010 et analysées par le logiciel Stata 11.0

RESULTATS

Caractéristiques sociodémographiques de la cible : La cible était majoritairement composée d'individus de sexe masculin (Figure 3).

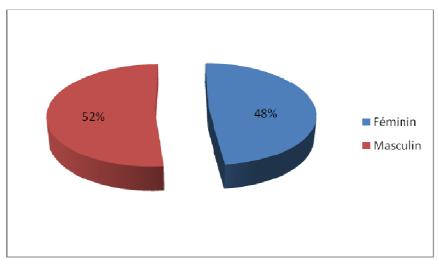


Figure 3 : Répartition des patients selon le sexe

La majorité des patients avait un âge compris entre 0 et 11mois. L'âge minimum était 3 jours et le maximum 48 mois (Figure 4).

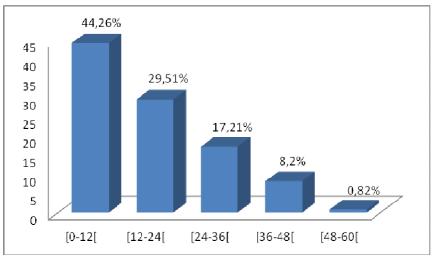


Figure 4 : Répartition des patients selon l'âge

Plus de la moitié des patients (51%) provenaient de la commune de Cotonou (Figure 5).

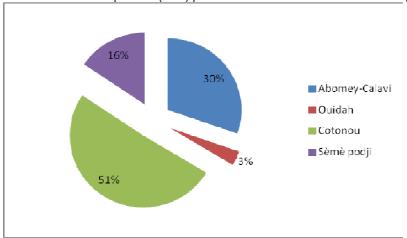


Figure 5 : Répartition des patients selon la commune de résidence

Caractéristiques cliniques et biologiques: 67,21 % des patients ont consulté avant 7 jours d'évolution de la maladie et 4,10% après deux semaines d'évolution de la maladie (Tableau 2).

Tableau 2 : Répartition des patients selon le délai de consultation

Délai de consultation	Fréquence	Pourcentage
< 3jours	18	14,75
[3jours-6jours]	64	52,46
[7jours-14jours]	35	28,69
≥15jours	5	04,10
Total	122	100

La plupart des patients étaient fébriles avec des températures fréquentes comprises entre 37,6 °C et 38,6 °C (46,72%) (Figure 6).

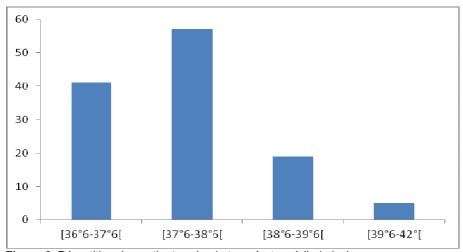


Figure 6. Répartition des patients selon la température à l'admission

Les signes cliniques les plus fréquemment rencontrés chez les patients ont été une hyperthermie supérieure ou égale à 38°C, (50,82%) suivis des vomissements (44,26%). Aucun SHU n'a été noté (Tableau 3).

Tableau 3 : Répartition des patients selon les signes cliniques

Signes cliniqu	ies	Fréquence	Pourcentage
	Hyperthermie ≥ 38°C	62	50,82
	Douleurs abdominales	20	16,39
	Vomissements	54	44,26
	Anémie hémolytique	0	0
	Insuffisance rénale	0	0
SHU \	Thrombopénie	0	0
Ĺ	Hémoglobinurie	0	0

SHU: Syndrome Hémolytique et Urémique

Isolement des germes: Escherichia coli a été la bactérie la plus isolée des selles (66,39%) comme le montre le Tableau 4.

Tableau 4. Répartition des cas en fonction des germes isolés

Germes		Effectifs	Pourcentage	
Bact	éries		•	
-	Escherichia coli	81	66,39	
-	Klebsiella pneumoniae	15	12 ,30	
-	Klebsiella rhinoscleromatis	05	04,09	
-	Klebsiella oxytoca	03	02,46	
-	Citrobacter spp	02	01,64	
-	Enterobacter spp	02	01,64	
-	Proteus mirabilis	08	06,56	
Para	sites			
-	Giardia intestinalis	01	00,82	
-	Trichomonas intestinalis	01	00,82	
-	Entamoeba histolytica	04	03,28	
Tota	ĺ	122	100	

E.coli a été plus isolé des selles de patients fébriles (Tableau 5).

Tableau 5 : Répartition des diarrhées à E. coli en fonction de la température des patients à l'admission

Températures (°C)	Effectifs (122)	E. coli (81)	Fréquence (%)
[36°6-37°6[41	24	58,54
[37°6-38°6[57	35	61,40
[38°6-39°6[19	18	94,74
[39°6-42°[5	4	80,00

Test d'agglutination avec le kit Oxoid Seroscreen : Une agglutination des particules du latex a été observée pour 4 souches d'*E. coli* sur les 81 testées, soit un taux de positivité de 4,94% (Figure 7).



Test négatif: (colonnes 1et 2)- Absence d'agglutination des particules du latex après 60 secondes **Test positif**: (colonne3) - Agglutination des particules de latex observée dans les 60 secondes

Figure7: Test Oxoid Dry spot E.coli Seroscreen

2 patients sur 4 faisaient une diarrhée sanglante (Tableau 6).

Tableau 6: Caractéristiques cliniques et biologiques des quatre(4) cas positifs au test d'agglutination Seroscreen

Cas positifs	Caractéristiques cliniques et biologiques				
	T(°C)	D.abdo.	Vomis.	Diarrhée	Leuco.féc
1er cas	38°	oui	non	non sanglante	quelques
2 ^{eme} cas	37°6	oui	non	sanglante	rares
3 ^{eme} cas	37°5	oui	non	non sanglante	rares
4 ^{eme} cas	38°2	oui	oui	sanglante	nombreux

T =Température ; D. abdo. = Douleurs abdominales ; Vomis.=Vomissements ;Leuco. féc.=Leucocytes fécaux

DISCUSSION

La présente étude a porté sur 122 enfants souffrant de diarrhées de deux hôpitaux situés dans la commune de Cotonou. 73 patients sur 122 ont été reçus à l'hôpital de zone de Suru-Léré. Les patients provenaient de cinq différentes communes. Les communes de Cotonou et d'Abomey-Calavi avaient fourni plus d'enfants au cours de l'étude. Ce constat s'explique par la plus forte concentration humaine dans ces communes (INSAE,

2013). Les résultats issus de l'analyse des données ont montré que les enfants ayant participé à la présente étude avaient un âge compris entre 0-48 mois avec une forte représentation de la classe d'âge 0-11 mois. La prédominance de cette tranche d'âge été rapportée par Sanou et al. (2003) à Ouagadougou, Konaté (2006) et Coulibaly (2007) à Bamako, avec les fréquences respectives 55,7%, 57%, 77,9%. Ces fréquences

élevées s'expliquent par le fait que, l'enfant avant l'âge de 12 mois est particulièrement exposé à la diarrhée pour deux raisons principales :

- la baisse des anticorps maternelles, pendant que se développe progressivement l'immunité propre de l'enfant. Le nourrisson est alors plus vulnérable aux infections pendant cette période.
- la diversification alimentaire de l'enfant, lorsqu'elle est mal conduite peut entraîner la malnutrition puis la diarrhée.

Les patients enrôlés étaient majoritairement du sexe masculin 52%. Ce résultat est comparable à celui de Coulibaly (2007) qui a trouvé 55% de sujets masculins à l'hôpital Gabriel Touré. Plus de la moitié des patients (67,21%) ont été admis à la phase aiguë de la diarrhée, avant 7 jours d'évolution de la maladie et 3,70% après deux semaines d'évolution de la maladie. Par ailleurs. dans 36,11 % des cas, les enfants ont été admis entre 7 et plus de 15 jours de la diarrhée. Ce taux élevé de malades recus après la phase aiguë s'expliquerait par la banalisation de la diarrhée par les mères et la méconnaissance de ses conséquences. Les symptômes les plus fréquemment associés à la diarrhée chez les patients étaient une hyperthermie supérieure ou égale à 38°C et les vomissements dans les proportions respectives de 51,85% et 47,22%. Ces taux sont inférieurs à ceux trouvés par Konaté (2006) qui étaient respectivement de 91% et 64%. Les conditions de culture utilisées au cours de l'étude ont favorisé de facon générale la croissance des souches d'Escherichia coli. Cette espèce bactérienne venait en première position parmi les germes isolés. Ce résultat confirme que E. coli demeure une cause fréquente de diarrhées surtout dans les pays en développement. Ceci est d'autant plus justifiable que nos résultats sont

proches de ceux Dormanesh et al.(2015). En effet, ces derniers ont, au cours de leur étude, signalé un taux d'isolement d'E.coli de 59% (118/200) des selles de patients diarrhéiques recus en pédiatrie. Dans le même temps, ils ont souligné une incidence plus élevé d'E.coli chez les patients âgés de 1-10mois. Escherichia coli a été isolé dans toutes les tranches d'âges et curieusement surtout plus dans les cas de diarrhées fébriles. Ce résultat était prévisible car la bactérie fait partie de la flore normale du tube digestif chez l'homme. Le test latex E.coli Serosreen a été positif pour 4 souches d'E.coli. Ce résultat prouve que les sérogroupes de Escherichia coli non-O157 recherchés dans notre étude circulent au Bénin. La forte implication des sérogroupes non-O157 notamment O26, O103, O111, et O145 dans les maladies diarrhéigues chez l'homme a été soulignée par diverses études (Mellman et al., 2008; Karch et al., 2009). Cette forte implication a été encore récemment confirmée par les travaux de Dormanesh et al.(2015). La séparation des souches positives à l'aide des kits Oxoid E.coli Serocheck a été envisagée pour la suite des travaux afin de détecter les sérogroupes de E.coli mis en cause parmi les six révélés par le test Seroscreen. De plus, le test latex E.coli Seroscreen ne confirme pas la production d'une vérotoxine. Il devient alors intéressant de confirmer la production de shiga-toxines des souches détectées par la biologie moléculaire. D'autres espèces bactériennes ont été également isolées dans 35 échantillons (28,69%). Ces résultats sont semblables à ceux de Sanou et al. (2003) et ne font que confirmer la diversité de l'étiologie des maladies diarrhéiques de l'enfant dans notre pays.

CONCLUSION

La présente étude a permis d'identifier par le test latex *E.coli* Seroscreen (Oxoid) quatre (04) souches de *E. coli* non-O157 en tant que causes de diarrhées chez des enfants. Ces souches appartiennent aux sérogroupes O26, O91, O103, O111, O128, et O145

RÉFÉRENCES

Boschi-Pinto C, Young M, Black RE, 2010. The Child Health Epidemiology Reference Group reviews of the effectiveness of interventions to reduce maternal, neonatal and child mortality. *Int J Epidemiol* 39 *Suppl1: i3–i6*.

UNICEF/WHO, 2009. Diarrhea: Why children are still dying and what can be done. Geneva: The

recherchés. Étant les sérogroupes non-O157 les plus fréquemment associés avec la production de shigatoxines, nous poursuivrons cette étude afin de confirmer la production des shiga-toxines desdites souches par la biologie moléculaire.

United Nations Children's Fund/World Health Organization, 1–58.

Black RE, Cousens S, Johnson HL, Lawn JE, Rudan I, Bassani DG, Jha P, Campbell H, Walker CF, Cibulskis R, Eisele T, Liu L, Mathers C, 2010. Global, regional, and national causes of child

- mortality in 2008: a systematic analysis. *Lancet* 375: 1969–1987.
- Fischer Walker CL, Perin J, Aryee MJ, Boschi-Pinto C, Black RE, 2012. Diarrhea incidence in lowand middle-income countries in 1990 and 2010: a systematic review. *BMC Public Health*; 12:220. doi: 10.1186/1471-2458-12-220.
- Gangnon M, 2007. Rôle des probiotiques lors d'infections entériques d'origine bactérienne et virale : analyses *in vitro* et études *in vivo* chez des modèles murins. PhD thèse, Université Laval, Québec, 170p.
- Savoye F, 2011. Optimisation du protocole de recherche des Escherichia coli Producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments. PhD thèse en Microbiologie-Science de la vie- à Bourgogne, p16.
- Vimont A, Vernozy-Rozand C, Mallen B, Bavai C, Dothal M, Gleizal A, 2006. Optimization of the enrichment protocol for detection of *Escherichia coli O157* in ground beef by the VIDAS *E. coli* O157 assay. Communication: 6th International Symposium on Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* Infections.
- Currie A, MacDonald J, Ellis A, Siushansian J, Chui L, Charlebois M, Peermohamed M, Everett D, Fehr M, Lai-King NG, 2007. Outbreak of *Escherichia coli*0157:H7 infections associated with consumption of beef donair. *J Food Prot* 70, 1483–1488.
- King LA, Mailles A, Mariani-Kurkdjian P, Vernozy-Rozand C, Montet MP, Grimont F, Pihier N, Devalk H, Perret F, Bingen E, Espié E, Vaillant V, 2009. Community-wide outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated with consumption of frozen beef burgers. *Epidemiol Infect* 137, 889–896.
- Bastien F, 2007. Écologie des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les effluents d'élevages bovins et le sol. PhD thèse Université Claude Bernard à LYON 1-page 18.
- King L, Mariani-Kurkdjian P, Gouali M, Vaillant V, le réseau des néphrologues pédiatres, 2014. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique post-diarrhéique chez les enfants de moins de 15 ans en France en 2013 Institut de Veille Sanitaire, 4 p.

- The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2008, 2010. European Food Safety AuthorityJournal.10:1496[cited2010Nov1].http://www.efsa.europa.eu/fr/scdocs/doc/s1496.pdf
- Okeke IN, Ojo O, Lamikanra A, Kaper JB, 2003. Etiology of Acute Diarrhea in Adults in Southwestern Nigeria. *Journal of Clinical Microbiology*, p. 4525–4530, Vol. 41, No. 10
- Ghoneim NH, Abdel-Moein KA, Mudar MA, 2014. Are Non-O157 Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* imposing their predominance over O157 in farm animals and human? *Global Veterinaria* 12 (5): 636-642
- INSAE, 2013. Recensement Général de la Population et de l'Habitat. MDAEP, INSAE : Cotonou, Bénin ; 8p.
- Akoègninou A, 2004. Recherches botaniques et écologiques sur les forêts actuelles du Bénin. Thèse d'État, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire, p. 326.
- Coulibaly B, 2007. Diarrhée due a : rotavirus, *E.coli*, *Salmonella*, et *Shigella* chez les enfants de 0 à 59 mois consultant dans le service d'urgence pédiatrique du CHU GABRIEL TOURE entre Mai 2006 A Juin 2007 (à propos de 436 cas). Thèse d'Etat, Université de Bamako, Mali, 77p.
- Konaté B, 2006. Surveillance épidémiologique des diarrhées à rotavirus chez les enfants de moins de 5 ans dans le service de pédiatrie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Gabriel Touré Bamako Mali : avril à août 2006, Thèse d'Etat, Université de Bamako, Mali, 157p.
- Sanou I, Kam KL, Tougouma A, Sangare L, Nikiema JHP, Sanou I, Koueta F, Dao L, Sawadogo SA, Soudre RB, 2003. Diarrhées Epidémiologiques, cliniques et évolutifs en milieu hospitalier à Ouagadougou. Recherche Médicale: Publications pédiatriques
- Dormanesh B, Siroosbakhat S, Goudarzi PK, Afsharkhas L, 2015. Shiga Toxigenic Escherichia coli in Iranian Pediatric Patients With and Without Diarrhea: O-Serogroups, Virulence Factors and Antimicrobial Resistance Properties. Iranian Red Crescent Medical Journal; 17(10): e29706.