

Roughyatou Ka

RESUME

Introduction : *Escherichia coli* entérohémorragique (ECEH), notamment le sérotype O157, est reconnu comme agent majeur de gastro-entérites sporadiques et épidémiques dans les pays développés. Mais il existe peu de données venant de l'Afrique car la notification et surtout leur confirmation bactériologique posent problème à cause de la faiblesse du plateau technique de nombreux laboratoires.

Objectifs : Pour avoir des renseignements sur la circulation de *E. coli* O157 à Dakar, nous avons fait une recherche systématique dans les selles reçues dans le laboratoire d'un hôpital pédiatrique dans la période allant de Novembre 2010 à Juin 2012. Nous l'avons recherché également dans des échantillons de muscle et d'intestins collectés de carcasses dans différents sites de boucherie-charcuterie.

Méthodologie : En plus des milieux classiques utilisés pour la coproculture (Hektoen, TCBS) pour la recherche de *Salmonella*, *Shigella* et *Vibrio cholerae*, la gélose Mac-Conkey Sorbitol (SMAC) a été ensemencée à partir des selles pour la recherche d'ECEH. Pour les échantillons de viande, une étape de préenrichissement était d'abord effectuée avant la culture sur milieu SMAC. A partir des colonies suspectes (colonies sorbitol négatif) une identification biochimique d'*E. coli* est effectuée puis une confirmation antigénique d'*E. coli* O157:H7 par agglutination de la souche avec les réactifs du Kit *E. coli* O157 Dryspot (OXOID).

Résultats : L'étude a porté sur 1667 échantillons de selles provenant majoritairement de garçons avec un sexe ratio (H/F) de 1,45 ; l'âge des patients variait de 2 jours à 68 ans et on note une prédominance des nourrissons. Un agent entéropathogène a été isolé et/ou identifié dans 369 échantillons de selles (22%). Treize (13) souches d'*E. coli* O157 ont été isolées soit 3,52% des agents entéropathogènes trouvés; elles ont été retrouvées surtout dans les tranches d'âge de 13 à 60 mois et de 6 à 10 ans (77%). Un seul nourrisson, de sexe masculin et âgé de 4 mois était infecté. La majorité des souches (69,2%) a été isolée lors des coprocultures pratiquées en avril et en août. Concernant les échantillons de viande, 18 souches d'*E. coli* O157 ont été retrouvées, 15 souches ont été isolées des muscles et 3 des intestins.

Conclusion : *E. coli* O157 est une bactérie entéropathogène présente au Sénégal. Vu les complications graves pouvant découler des diarrhées à *E. coli* O157 (syndrome hémolytique et urémique SHU et purpura thrombocytopénique PTT), il serait pertinent, comme recommandée par l'OMS, de rendre sa recherche systématique lors des coprocultures dans nos laboratoires.

Mots-clés : *Escherichia coli* entérohémorragique, sérotype O157, Dakar

ABSTRACT

RESEARCH OF *ESCHERICHIA COLI* IN STOOL AND MEAT SAMPLES IN DAKAR

Introduction : Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), including serotype O157, is recognized as a major agent of sporadic gastroenteritis epidemic in developed countries. But there are few data from Africa, the notification and bacteriological confirmation are especially problematic because of the weakness of the technical equipment in many laboratories.

Objectives : To get information about the circulation of *E. coli* O157 in Dakar, we did a systematic research in the stools received in the laboratory of a pediatric hospital in the period from November 2010 to June 2012. We used also meats samples collected in various sales sites.

Methodology : In addition to conventional media used for stool (Hektoen , TCBS) for the detection of *Salmonella*, *Shigella* and *Vibrio cholerae* , the Mac-Conkey Sorbitol agar (SMAC) was seeded from stool looking for EHEC. For meat samples, we did pre enrichment step in a broth before growth in SMAC media. From suspicious colonies (sorbitol negative colonies), biochemical identification of *E. coli* was then made and the antigenic confirmation of *E. coli* O157 strain was done by agglutination with the kit reagents *E. coli* O157 Dryspot (Oxoid).

Results : The study focused on 1,667 stool specimens coming mostly boys with a sex ratio (M / F) of 1.45, and the ages ranged from 2 days to 68 years and there is a predominance of infants. An enteropathogenic agent was isolated and / or identified in 369 stool samples (22 %). Thirteen (13) *E. coli* O157 strains were isolated (3.52 % of enteric pathogens found) and were found mainly in the age 13 to 60 months and 6 to 10 years (77%). One male 4 months old infant, was infected. The majority of strains (69.2%) was isolated in stool cultures performed in April and August.

In meat samples, we found 18 strains of *E. coli* O157; 15 of them from muscles samples and the 3 other from intestine.

Conclusion : *E. coli* O157 is an enteropathogenic bacteria present in Senegal. Given the serious complications which can result from diarrhea caused by this bacteria (hemolytic uremic syndrome HUS and thrombotic thrombocytopenic purpura TTP), it would be appropriate to its systematic research in the stools in our laboratories, as recommended by WHO and to control quality of food.

Keywords: Senterohaemorrhagic *Escherichia coli* , serotype O157, Dakar

1 Service de Bactériologie-Virologie, Faculté de Médecine de Dakar, Sénégal

Auteur correspondant : Dr Roughyatou Ka, Maitre Assistante, Bactériologie-Virologie, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, SENEGAL, Tel : 00 221 33 869 18 75 / 00 221 77 649 39 39, mail : roughyka@gmail.com

INTRODUCTION

Escherichia coli entérohémorragique (ECEH) est reconnu comme agent majeur de gastro-entérites sporadiques et épidémiques dans les pays développés [1]. Des études ont montré que les diarrhées à ECEH deviennent parfois aussi fréquentes que celles à *Salmonella*, *Shigella* ou *Campylobacter* [2]. Le sérotype O157 est le plus souvent incriminé, c'est pourquoi, l'OMS a recommandé depuis 2006, sa recherche systématique lors de la coproculture. Cet agent est en effet responsable de diarrhées sanglantes pouvant se compliquer d'un syndrome hémolytique et urémique (SHU) notamment chez les enfants, ou d'un purpura thrombotique thrombocytopenique (PTT) chez l'adulte [2].

Il existe peu de données venant de l'Afrique [3, 4] car la notification et surtout leur confirmation bactériologique posent problème à cause de la faiblesse du plateau technique de nombreux laboratoires [5].

Ainsi, nous avons mené cette étude pour avoir des renseignements sur la circulation de *E. coli* O157 au Sénégal aussi bien en pathologie humaine qu'en milieu vétérinaire. La bactérie a été recherchée systématiquement lors de la coproculture dans un hôpital pédiatrique et lors de la culture d'échantillons de viande destinés à la consommation.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

- Echantillons de selles

Il s'agissait des selles reçues pour coproculture au Laboratoire de Biologie Médicale de l'Hôpital d'Enfants Albert Royer dans la période allant de Novembre 2010 à Juin 2012. Un seul échantillon a été comptabilisé par patient, les coprocultures de contrôle n'ont pas été prises en compte.

Après examen macroscopique et microscopique des selles, nous avons, en plus des milieux classiques utilisés pour la coproculture (Hektoen, TCBS),ensemencé selon la méthode des quadrants une gélose Mac-Conkey Sorbitol (SMAC).

Après 24 heures d'incubation à +37°C, en aérobiose, cinq colonies suspectes d'être celles d'un *E. coli* O157 (incolores et transparentes car ne fermentant pas le sorbitol) sont repiquées chacune sur une mini-galerie d'identification : gélose Kligler-Hajna (KH), gélose Citrate de Simmons (CS), bouillon urée-indole (UI) et gélose Mueller Hinton (MH).

L'identification présomptive à partir de la mini galerie consiste à rechercher le jour suivant les caractères orientant vers l'espèce *E. coli* : bacille à Gram négatif, oxydase négative, fermentation du lactose et du glucose avec production de gaz, absence de croissance sur gélose au CS, uréase négative avec production d'indole.

On procède alors à la confirmation antigénique d'*E. coli* O157:H7 par agglutination de la souche avec les

réactifs du Kit *E. coli* O157 Dryspot (OXOID).

- Echantillons de produits carnés

Des échantillons de muscle et d'intestins ont été collectés de carcasses dans trois sites différents : un supermarché où la charcuterie est exposée dans une zone réfrigérée ; aux marchés où les carcasses de viande sont exposées à l'étal ; à la SOGAS (Société de Gestion des Abattoirs du Sénégal) qui abrite l'abattoir national dirigé par un vétérinaire qui est chargé de contrôler l'état de santé des animaux avant l'abattage et ensuite la qualité de la viande.

Tableau I : Répartition des échantillons de viande selon les sites de collecte à Dakar (2010 – 2012)

Echantillons de viande		Sites de collecte des échantillons			
		Nature	Nombre	SOGAS	Super-marché
Boeuf	Viande	23	20	1	2
	Intestin	20	20	0	0
Mouton	Viande	15	15	0	0
	Intestin	18	15	0	3
Porc	Viande	19	15	0	4
	Intestin	15	15	0	0
Total		110	100	1	9

Légende : SOGAS = Société de Gestion des Abattoirs du Sénégal

Cinquante grammes (50 g) de produit carné sont découpés finement, puis broyés manuellement dans un mortier en porcelaine, en présence de sable de mer stérile et d'eau isotonique. Le liquide de broyage est filtré à l'aide de compresses stériles et recueilli dans un flacon stérile.

Une goutte du filtrat est ensemencée sur gélose SMAC (1ère gélose) selon la technique des quadrants ; on l'incube pendant 24H à +37°C, en aérobiose.

Parallèlement, trois gouttes du filtrat sont ensemencées dans 5ml de bouillon trypticase soja en vue d'un enrichissement. Après 8H d'incubation à +37°C, une goutte de bouillon est repiquée sur une gélose SMAC (2ème gélose). Le reste de la procédure est la même que pour la recherche dans les selles.

RÉSULTATS

Nous avons collecté et testé 1667 échantillons de selles et 110 échantillons de viande et d'abats.

- Echantillons de selles

Données globales

Les selles avaient un aspect franchement pathologique (glaireux, glairo-sanguinolent ou liquide) dans pour près de 44% des échantillons. Elles provenaient

majoritairement de garçons avec un sexe ratio (H/F) de 1,45 ; l'âge des patients variait de 2 jours à 68 ans et on note une prédominance des nourrissons.

.Agents entéropathogènes isolés

Un agent entéropathogène a été isolé et/ou identifié dans 369 échantillons de selles (22%). Il s'agissait de : *Rotavirus* (301 souches soit 81,5%), *Salmonella* (30 souches soit 0,08%), *Adénovirus* (14 souches soit 0,03%), *E. coli* O157 (13 souches soit 0,035%), *Shigella* (10 souches) et *Campylobacter jejuni* (1 souches). Les virus représentaient 85,36% de ces agents entéropathogènes isolées chez nos patients.

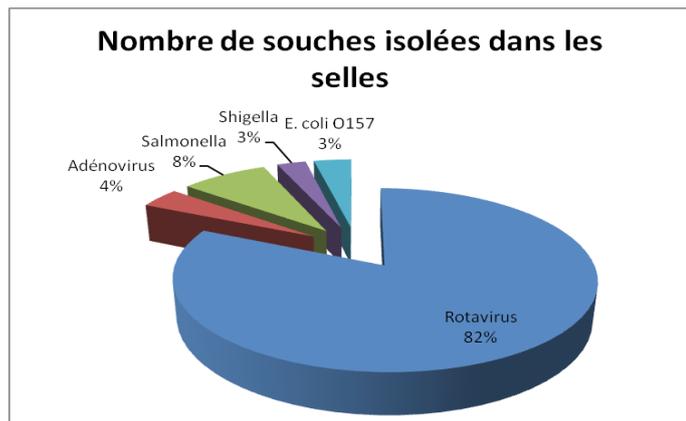


Figure 1: Pourcentage des agents entéropathogènes isolés lors de la coproculture au Laboratoire de l'Hôpital d'Enfants Albert Royer de Dakar entre 2010 et 2012

.Isolats d'E. coli O157

Treize (13) souches d'*E. coli* O157 ont été isolées dans les selles soit 3,52% des agents entéropathogène isolés ; 5 (38,5%) provenaient de selles pâteuses et 1 (7,7%) de selles glaireuses.

Ces souches ont été retrouvées surtout dans les tranches d'âge de 13 à 60 mois et de 6 à 10 ans (77%). Un seul nourrisson, de sexe masculin et âgé de 4 mois était infecté (Figure 2).

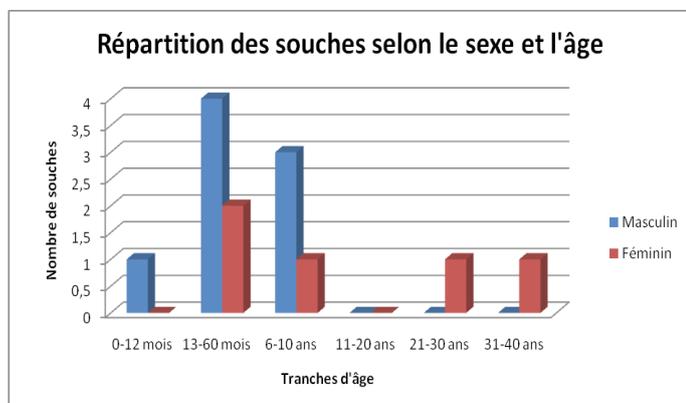


Figure 2: Répartition des isolats d'*E. coli* O157 selon le sexe et l'âge à l'HEAR (2010-2012)

La majorité des souches (69,2%) a été isolée lors des coprocultures pratiquées en avril et en août.

- Echantillons de produits carnés

.Données globales

Les échantillons ont été recueillis chez trois types d'animaux : bœuf (43), porc (34) et mouton (33).

.Isolats d'E. coli O157

Une souche d'*E. coli* a été isolée dans 41 échantillons. Parmi ces 41 isolats, 18 (44%) appartiennent au sérotype *E. coli* O157.

Au moins une souche d'*E. coli* O157 a été retrouvée chez chacun des 3 types d'animaux. Les souches d'*E. coli* proviennent dans 94% des carcasses de l'abattoir national "SOGAS", 15 souches ont été isolées des muscles et 3 des intestins ; une seule souche a été trouvée dans la viande hachée prélevée dans un Supermarché et aucune de ceux achetés au niveau des marchés.

Tableau II : Origine des souches d'*E. coli* O157 selon le produit carné à Dakar (2010-2012)

Souches	Mouton		Bœuf		Porc		Total
	Muscle	Intestin	Muscle	Intestin	Muscle	Intestin	
<i>E. coli</i>	9	7	7	1	12	5	41
<i>E. coli</i> O157	7	0	4	1	4	2	18
%	17%		12,25%		14,65%		43,90%

DISCUSSIONS

- Souches humaines

L'identification des agents pathogènes isolés dans les selles lors de cette étude montre l'importance des virus comme agent de gastro-entérites aiguës ; ceci est classique dans le monde [6]. Parmi les bactéries, *E. coli* O157 occupe la 2e place derrière *Salmonella*.

Dans l'ensemble, l'aspect des selles a été évocateur d'une pathologie digestive avec près de la moitié des selles qui était glaireuses ou glairo-sanguinolentes ou liquides. En effet, *E. coli* O157 est parfois retrouvé dans des selles non typiques [2], ce qui rend difficile les études de prévalence puisque les malades ne présentent généralement aucun des symptômes rencontrés et ne vont donc pas consulter leur médecin. Treize souches de *E. coli* O157 ont été isolées de 1677 échantillons de selles soit une prévalence faible de 0,78%. Il faut également souligner que nos laboratoires ne sont pas assez outillés du point de vue réactifs pour le sérotypage de *E. coli* O157, donc la bactérie n'est pas recherchée en routine. Par rapport aux échantillons de selles dans lesquels un agent pathogène a été isolé, le taux d'isolement est de 3,52% mais on trouve un taux plus élevé en Afrique du Sud (7,5%) et au Nigeria (5,7%). [7, 8]. Dans les pays développés, ce taux paraît plus faible variant de 1,4% au Canada à 2,7% en Espagne [9].

Les enfants âgés de 13 à 60 mois étaient les plus touchés. Dans certains pays, la surveillance de l'infection à *E. coli* O157 se fait à partir des déclarations systématiques de cas de SHU et/ou de PTT surveillant chez des patients de moins de 15 ans, cette tranche d'âge étant la plus touchée [2, 8]. La majorité des souches humaines (69,2%) ont été isolées pendant la saison sèche et chaude ainsi qu'une partie de l'hivernage à Dakar. Dans les différentes études déjà menées, il avait été remarqué que les épidémies survenaient plus particulièrement durant les mois chauds de l'été [7], plus propices au développement des micro-organismes. D'ailleurs c'est également durant cette période que l'on remarque une augmentation de la prévalence au sein des troupeaux de bovins ainsi qu'un pic d'excrétion des EHEC par ces derniers [10].

Des études ont montré que l'environnement et les conditions de vie constituent un important facteur favorisant l'émergence d'infections à *E. coli* O157 surtout lorsqu'on sait qu'ils peuvent survivre jusqu'à 21 mois dans le milieu extérieur [8].

Ainsi la présence d'élevages domestiques à proximité des foyers auxquels s'ajoutent des pratiques d'hygiène précaires, la stagnation des eaux semblent contribuer à la croissance et la transmission d'ECEH O157 aux populations [10].

Deux problèmes se posent pour l'identification de *E. coli* O157 au laboratoire :

- la non fermentation du sorbitol sur gélose SMAC a été le principal caractère biochimique d'orientation utilisé, cependant ce caractère est inconstant ; en effet plusieurs études ont montré l'implication de souches sorbitol (+) dans des cas d'infections, de SHU et d'épidémies et le sérotype alors impliqué est *E. coli* O157H- immobile [11].

- le test *E. coli* O157 Dryspot permet de mettre en évidence par agglutination sur lame les souches d'*E. coli* possédant l'antigène du séro-groupe O157. Cependant des réactions croisées ont été décrites avec d'autres espèces comme *E. hermannii*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella angoda*, etc... à cause d'un antigène commun [12].

Ce qui peut laisser planer un doute sur l'identité réelle de l'isolat testé, d'où l'importance de toujours compléter l'identification par des caractères biochimiques et de confirmer que la souche est productrice de vérotoxines [9].

- Souches animales

Durant notre étude, le taux d'isolement d'*E. coli* O157 dans les produits carnés a été de 16,36%. Pour les bovins en particulier, il est de 12,25%. La prévalence chez les bovins d'abattoirs est estimée à 1,9% en France [10]. Une étude menée dans des fermes en

Espagne montre un taux d'isolement de 0,7% bien que la prévalence des souches de ECEH productrices de *shiga-toxines* atteignent 27% [9]. A Mexico, la prévalence chez les animaux atteint 43,1% avec un taux de 33% chez les bœufs [13]. Ces prévalences varient en fonction de l'âge, du sexe de l'animal, du stade de production, des saisons (plus élevée pendant les mois chauds), de l'alimentation, de l'environnement et des différentes pratiques au niveau des systèmes de management des élevages (densité des animaux, type d'élevage) [9].

Chez les moutons, nous avons un taux de 17% de portage des *E. coli* O157 ; il est de 35,3% en Espagne et 36% au Mexique [13] même si d'une manière générale le sérotype O157:H7 a rarement été isolé.

Le porc n'est pas considéré comme un réservoir principal pour *E. coli* O157 qui a été retrouvé chez 14,65% des échantillons de porcs dans notre étude. En Afrique, une étude menée dans le nord-ouest de l'Afrique du Sud a montré une prévalence chez le porc variant entre 44 et 50% [10] alors que dans des pays européens, elle varie de 0,2 à 2% [14]. Ceci est lié certainement aux mesures d'hygiène appliquées dans ces élevages.

La majorité des souches (83,3%) ont été isolées des muscles. La viande est contaminée lorsque les carcasses de bœuf sont mises en contact avec des matières fécales et/ou des dépouilles contaminées durant le processus d'abattage [15]. Aussi ces constatations renforcent l'intérêt de la mise en œuvre de mesures d'hygiène préventives rigoureuses lors de l'abattage.

Le pourcentage d'isolement d'*E. coli* O157:H7 dans les viandes hachées peut varier de 3,7% jusqu'à 40% dans certaines études [13] ; nous n'avons disposé que d'un seul échantillon de viande hachée, il contenait une souche d'*E. coli* O157:H7.

CONCLUSION

Escherichia coli entérohémorragique O157H7 est souvent impliqué dans de nombreux cas de diarrhées voire des épidémies. La transmission à l'homme passe surtout par la consommation d'aliments contaminés comme la viande hachée crue ou mal cuite, le lait cru, les légumes crus et les graines germées contaminés.

Cette étude portant sur la recherche systématique d'*E. coli* O157 a permis l'isolement de 13 souches dans 369 échantillons de selles dans un hôpital pédiatrique et de 18 souches dans 41 échantillons de produits carnés (bœuf, mouton, porc).

Les infections à *E. coli* O157:H7 ont un impact économique considérable (pertes financières et humaines, coût du traitement des personnes infectées, coût des dépenses pour prévenir la contamination des produits alimentaires).

Leur propagation rapide, leur virulence et leur résis-

tance justifieraient la mise en place d'un réseau de surveillance de ce pathogène en Afrique et particulièrement au Sénégal.

RÉFÉRENCES

- 1- Pearson H. The dark side of *E. coli*. *Nature* 2007; 445: 8-9.
- 2- Chui L, Lee MC, KMalejczyk C, Lim L, Fok D, Kwong P. Prevalence of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* as Detected by Enzyme-Linked Immunoassays and Real-Time PCR during the Summer Months in Northern Alberta, Canada. *J of Clin Microbiol.*2011;49(12):4307–4310
- 3- Oulkheir S, Ounine K, El Haloui NE, Bricha S, Ikko L, Anatarassi B. Présence et excretion d'*Escherichia coli* O157:H7 par les animaux d'élevage et leur prévalence dans les aliments d'origine animale. *Rev Tun Infectiol* 2008; 2 (3): 1-10.
- 4- Kaddu-Mulindw DH, Aisu T, Gleier K, Zimmermann S, Beutin L. Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in fecal samples from children with diarrhea and from healthy zebu cattle in Uganda. *Int J Food Microbiol* 2001; 66: 95-101.
- 5- AFSSA. Bilan des connaissances relatives aux *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC*). Maisons-Alfort : Afssa, Avril 2003. 220p
- 6- Cheng AC, McDonald JR, Thielman MN. Infectious diarrhea in developed and developing countries. *J Clin Gastroenterol.*2005;39:757-73
- 7- Ateba CN, Mbewe M, Bezuidenhout CC. La prévalence des souches d'*Escherichia coli* O157 chez les bovins, les porcs et les humains dans la province du Nord-Ouest, l'Afrique du Sud; *S Afr J Sci.*2008;104(1-2):
- 8- Vincent N. Chigor, Veronica J. Umoh, Stella I. Smith, Etinosa O. Igbinoso and Anthony I. Okoh. Multidrug Resistance and Plasmid Patterns of *Escherichia coli* O157 and Other *E. coli* Isolated from Diarrhoeal Stools and Surface Waters from Some Selected Sources in Zaria, Nigeria. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*2010;7:3831-3841
- 9- Blanco J, Blanco M, Blanco JE, Mora A, Gonzalez EA, Bernandez MI, ET al. Verotoxin-Producing *Escherichia coli* in Spain: Prevalence, Serotypes, and Virulence Genes of O157:H7 and Non-O157 VTEC in Ruminants, Raw Beef Products, and Humans. *Experimental Biology and Medicine* 2003, 228:345-351.
- 10- Loukiadis E, Kerouredan M, Beutin L, et al. Characterization of Shiga Toxin Gene (stx)-Positive and Intimin Gene (eae)-Positive *E. coli* Isolates from Wastewater of Slaughterhouses in France. *Appl Environ Microbiol.* 2006 May; 72(5):3245-51.
- 11- Karch H, Bielaszewska M. Sorbitol-fermenting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H–strains: Epidemiology, phenotypic and molecular characteristics and microbiological diagnosis. *J. Clin. Microbiol.*2001;39:2043–2049.
- 12- Gourmelon M. Recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans l'environnement marin (coquillages). Thèse de doctorat, Juin 2006
- 13- Amezquita-Lopez BA, Quinones B, Cooley MB, Leon-Felix J, Castro-del Campo N, et al. Genotypic Analyses of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 and Non-O157 Recovered from Feces of Domestic Animals on Rural Farms in Mexico. *PLoS ONE.*2012 ;7(12): e51565
- 14- Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: Emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res.*2005;36:289-311.
- 15- Elder RO, Keen JE, Siragusa GR, Barkocy-Gallagher GA, Koomaraie M, Laegreid WW. Correlation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 prevalence in feces, hides and carcasses of beef during processing. *P.N.A.S.,* 2000;97: 2999-3003.