

# 尼日利亚罗斯河州选定社区腹泻和非腹泻儿童 大肠杆菌O157H7的比较分离

农格·约瑟夫·福<sup>1</sup>，奥沃塞尼·莫吉索拉·克里斯蒂安娜<sup>1</sup>，乌拉·彼得·乌特<sup>1</sup>，奥多尼耶·达乌达·丹塔尼<sup>1</sup>，艾克哈热内格比·佩德罗<sup>1</sup>，法达奥米·维克托·科拉沃勒<sup>1</sup>，乌琴瓦·默西·奥盖奇<sup>2</sup>

1. 尼日利亚 拉菲亚 联邦大学理学院 微生物系

2. 尼日利亚 卡拉巴尔 卡拉巴尔大学生物科学学院 微生物系

**摘要：**大肠杆菌 O157: H7 被认为是一种新兴的食源性病原体，在全球范围内引起严重腹泻疾病，特别是在撒哈拉以南非洲地区的 5 岁以下儿童中。本研究旨在对尼日利亚罗斯河州选定社区腹泻和非腹泻儿童大肠杆菌 O157: H7 的分离率进行比较研究。收集五岁以下儿童的粪便样本，使用标准微生物和生化程序分离和鉴定病原体。使用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 和抗兔 H7 乳胶血清凝集技术进行了检测大肠杆菌 O157: H7 血清型的血清学分析。在抽样的 367 名腹泻儿童中，70 人 (19.07%) 对大肠杆菌 O157: H7 呈阳性，患病率与对照组有显著差异 ( $p < 0.05$ )。腹泻病例 (19.07%) 和非腹泻病例 (1.39%) 之间的大肠杆菌 O157: H7 的患病率在采样区域之间也存在显著差异 ( $p < 0.05$ )。1 岁以下的腹泻儿童在  $p < 0.05$  时的患病率明显最高，为 26.83%，但未观察到儿童性别与感染该生物体的比率之间的显著关系。因此，儿童腹泻大便是大肠杆菌 O157: H7 在国内传播的主要媒介。改善家长和护理人员的个人卫生和环境卫生可以减少这种病原体引起的腹泻病在五岁以下儿童中的传播。

**关键词：**大肠杆菌 O157: H7；儿童腹泻；尼日利亚

## Comparative Isolation of Escherichia coli 0157:H7 from Diarrhoeic and Non-Diarrhoeic Children in Selected Communities in Cross River State, Nigeria

Nfongeh Joseph Fuh<sup>1</sup>，Owoseni Mojisola Christiana<sup>1</sup>，Upla Peter Uteh<sup>1</sup>，Odneye Dauda Dantani<sup>1</sup>，Akharengbe Pedro<sup>1</sup>，Fadayomi Victor Kolawole<sup>1</sup>，Uchenwa Mercy Ogechi<sup>2</sup>

1. Department of Microbiology, Faculty of Science, Federal University, Lafia, Nigeria

2. Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, University of Calabar, Calabar, Nigeria

**Abstract:** Escherichia coli O157:H7 has been considered an emerging foodborne pathogen causing severe diarrheal disease globally especially among children under the age of five years in Sub-Saharan Africa. This study was aimed at conducting a comparative study on the rate of isolation of Escherichia coli O157:H7 from diarrhoeic and non-diarrhoeic children in selected communities in Cross River State, Nigeria. Stool samples were collected from children under the age of five yrs and the pathogen isolated and identified using standard microbiological and biochemical procedures. Serological analysis to detect E. coli O157:H7 serotype was carried out using Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and anti-rabbit H7 latex serum agglutination techniques. Out of 367 diarrhoeic children sampled, 70 (19.07%) were positive for E. coli O157:H7 and the prevalence differed significantly ( $p < 0.05$ ) with the control. The prevalence of E. coli O157:H7 between diarrhoeal (19.07%) and non-diarrhoeal (1.39%) cases also differed significantly ( $p < 0.05$ ) among the sampling areas. Diarrhoeic children below the age of one year had significantly highest prevalence of 26.83% at  $p < 0.05$  though no significant relationship between the sex of the children and the rate of infection with the organism was observed. Children diarrhoeic stool therefore serves as

a major vehicle in the domestic transmission of *Escherichia coli* O157:H7. Improved personal hygiene and environmental sanitation among parents and care givers can reduce the spread of diarrheal disease caused by this pathogen amongst children under the age of five years.

**Keywords:** *Escherichia coli* O157:H7; Childhood diarrhoea; Nigeria

## 1. 简介

在发展中国家，腹泻是5岁以下儿童发病率和死亡率的主要原因之一<sup>[1]</sup>。这些国家5岁以下儿童21%的儿童死亡率与腹泻有关，导致每年250万人死亡<sup>[2]</sup>。腹泻导致的幼儿死亡人数超过艾滋病、疟疾和麻疹的总和<sup>[3, 4]</sup>。不同的腹泻综合征可由单一或多种病因的细菌、病毒和寄生虫感染引起<sup>[5]</sup>。大肠杆菌是研究最多的细菌，在大多数温血动物出生后几小时或几天内定植于胃肠道<sup>[6]</sup>。大肠杆菌O157:H7是细菌种大肠杆菌的一种血清型，是志贺毒素产生型之一<sup>[4]</sup>。大肠杆菌O157:H7是一种重要的食源性病原体，对公共卫生具有重要意义<sup>[7, 8]</sup>。食品病原体可导致300多种疾病，从单纯腹泻到死亡<sup>[9]</sup>。

摄入受污染的食物或水，或口腔接触受污染的表面后感染O157:H7大肠杆菌<sup>[10]</sup>食用受污染的和生的食物，包括生牛奶，有助于传播<sup>[11]</sup>。世界卫生组织在2008年表示，在他们的研究中分离出的腹泻性大肠杆菌的最高数量属于O157:H7血清组<sup>[4]</sup>。在发展中国家，儿童腹泻的负担及其死亡率仍然存在。非洲和亚洲占因腹泻导致的儿童死亡的80%，尼日利亚位居第二，估计每年共有151700名儿童因腹泻死亡<sup>[12]</sup>。本对比研究旨在分析尼日利亚罗斯河州选定社区腹泻和非腹泻儿童的大肠杆菌O157:H7。

## 2. 材料和方法

### 2.1 研究区域

这项研究是在罗斯河州选定的人口稠密社区进行的。该州位于尼日利亚南部尼日尔三角洲地区，面积29910km<sup>2</sup>，截至2006年尼日利亚人口普查，估计人口为3920208人<sup>[13]</sup>。它北邻贝努埃州，西邻埃努古州和阿比亚州，东邻喀麦隆共和国，南邻阿克瓦伊博州和大西洋

### 2.2 抽样设计

研究区域根据政治参议院选区（即北部、中部和南部选区）绘制。每个参议员区进一步划分为两个采样区（SA），每个采样区包括两个人口最多的地方政府区（LGA），即SA1（Obudu/Bekwarra LGA）、SA2（Ogoja/Yala LGA）和SA3（Ikom/Boki LGA）、SA4（Obubra/Yakurr LGA）以及SA5（Akamkpa/Biase LGA）及SA6（Calabar市/Akpabio LGA）

### 2.3 道德批准

各卫生机构的伦理审查委员会获得了伦理批准。要求父母/监护人并提供知情同意书，以便其子女/监护人参与本研究。

### 2.4 大肠杆菌O157:H7传播的环境/人类因素调查

向每名受试者的父母/监护人发放了一份标准结构化问卷，以获取重要的人口统计、临床和环境数据，如受试者年龄、性别、父母职业、饮用水的喂养习惯来源、腹泻类型、动物接触等。

### 2.5 样品采集

粪便样本取自0-5岁的男儿童，在样本采集前至少48小时未接受任何抗生素治疗。共采集309份新鲜腹泻样本，分布如下：分别从采样区1、2、3、4、5和6采集69、60、63、65、52和58份，从儿科病房门诊患者和住院患者以及产后就诊患者采集216份非腹泻样本（每个采样区36份）。位于每个采样区域内的医院和卫生中心被用作转诊中心。

腹泻病例被定义为在过去24小时内有一次以上液体稠度大便或三次或三次以上稀稠大便的病史。严重腹泻被定义为三次以上水样大便加上脱水症状（意识减退、眼睛凹陷、粘膜干燥、口渴和皮肤肿胀）<sup>[14]</sup>。将样品收集在含有Amies运输介质的干净、防漏、带螺丝帽的塑料容器中。收集的所有样品在24小时内于4℃的冰箱中运输至微生物实验室进行分析。

### 2.6 样品处理

将约1.0ml来自运输培养基的每个粪便样品悬浮液加入到10ml含有头孢克肟（0.05mg/l）和万古霉素（8.0mg/l）（BPW-CV）的缓冲蛋白胍水中，并剧烈涡旋30秒以使混合物均匀化。然后在37℃下孵育24小时以进行富集。

酶联免疫吸附试验（ELISA）技术用于所有富集样品中大肠杆菌O157抗原的定性检测<sup>[15]</sup>。将每种样品的两滴引入单独的孔中，直到根据待分析的富集样品的数量使用所有所需数量的孔（不包括对照孔）。还将两滴阳性和阴性对照溶液滴入各自的孔中。将内容物在37℃孵育30分钟，并向每个孔中加入2滴酶缀合物。孵育30分钟后，用去离子水洗涤内容物三次，并在轻轻摇晃下向每一滴中加入2滴色原。将结果与阳性和阴性对照孔的结果进行比较。黄色的显著颜色变化表明存在由抗-E结合的大肠杆菌O157抗原。coli O157抗体浸渍在孔中。光学

密度 (OD) 读数大于0.15也证实了阳性结果。

根据[16]的建议, 使用标准大肠杆菌0157: H7培养技术对ELISA结果呈阳性的所有富集样品进行分析。

使用生理盐水 (0.85%w/v NaCl) 将所有富集的ELISA阳性粪便样品连续稀释至10-3。将约0.1ml 10-2和10-3稀释液涂布在补充有头孢克肟 (0.5mg/l) 和亚碲酸钾 (2.5mg/l) 的山梨醇MacConkey琼脂上 (SMAC CT)。所有培养的样品在42 °C下孵育过夜24小时。SMAC-CT上呈无色至灰色的山梨醇阴性菌落被认为对大肠杆菌0157: H7呈阳性。在每个平板上分离出三个随机选择的可疑菌落, 分别在营养琼脂斜面上继代培养, 并在4°C下保存在冰箱中。

将营养琼脂斜面上分离的所有阳性菌落进一步接种到含有MUG (大肠杆菌MUG) 培养基的大肠杆菌试管中, 并在42 °C下培养18-24小时。然后在长波长 (650nm) 的紫外线 (uv) 下观察肉汤培养物, 以检测大肠杆菌0157: H7不能裂解MUG (除大肠杆菌0157: H7外, 约92%的大肠杆菌产生葡萄糖醛酸酶, 该酶裂解MUG产生蓝色荧光产物)。阳性分离物被认为是那些发酵乳糖 (黄色肉汤)、产生气体 (收集在浸没的杜伦管末端) 且不产生任何荧光的分离物。还对分离物进行了大肠杆菌典型的其它验证性生化测试, 如吡啶、甲基红、voges proskauer、柠檬酸盐和赖氨酸脱羧酶。

使用标准大肠杆菌0157: H7抗血清 (Difco Laboratories, Detroit, Mich.) 进行抗原分型, 该抗血清由兔子生产并用甘油以1: 2稀释保存。按照<sup>[3]</sup>的建议, 使用玻片凝集技术直接从山梨醇麦康基琼脂 (SMAC) 中测试复苏的菌落。与大肠杆菌0157: H7抗血清快速凝集

的菌落被认为是确认的阳性大肠杆菌0157: H7菌落。

### 3. 结果

表1显示了不同采样区腹泻和非腹泻病例中大肠杆菌0157: H7的不同百分比流行率。腹泻病例的最高百分比流行率为30.77%, 出现在采样区4 (奥布布拉/雅库尔地方政府区), 其次是采样区3 (Ikom/Boki地方政府区), 采样率为25.40%, 而采样区5 (Akamkpa/Odukpani地方政府地区) 的最小值为11.54%。不同采样地区腹泻病例中大肠杆菌0157: H7的患病率存在显著差异 ( $p < 0.05$ )。SA1 (Obudu/Bekwarra LGA)、SA4 (Obubra/Yakurr LGA) 和SA6 (Calabar市政当局/Akpabio LGA) 的非腹泻样本的患病率为2.78%, 而SA2、SA3和SA5中未分离出病原体。非腹泻病例的患病率百分比无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 而腹泻病例和非腹泻病例之间的值有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

从采样区4获得的男性腹泻样本的患病率最高, 为28.57%, 其次是采样区3, 为21.21%。从采样区2获得的最低百分比为10.34%, 而总体患病率为17.51%。在女性腹泻病例中, 从采样区3获得的最高患病率为30.00%, 其次是从采样区4获得的27.27%。从采样区5获得的最低患病率为10.00%, 而总体患病率为18.95%。如表2所示, 两性之间的患病率没有显著差异 ( $p > 0.05$ )。

根据不同年龄段, 腹泻儿童中大肠杆菌0157: H7的发生率如表3所示。<1岁年龄段的患病率最高, 为26.83%, 3-4岁年龄段最低, 为16.78%。不同年龄段大肠杆菌0157: H7的患病率有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

在评估腹泻儿童的环境和行为习惯对大肠杆菌0157: H7传播的影响时, 被认为发生频率较高的环境

表1 不同采样区腹泻和非腹泻样品中大肠杆菌0157: H7的患病率

Sampling Areas	Total No. diarrhoea of samples	No. of positive diarrhoeal samples (%)	No. of non-diarrhoeal samples	No. of positive non-diarrhoeal samples (%)
SA1	69	13 (18.84)	36	1 (2.78)
SA2	60	7 (11.67)	36	0 (0.00)
SA3	63	16 (25.40)	36	0 (0.00)
SA4	65	20 (30.77)	36	1 (2.78)
SA5	52	6 (11.54)	36	0 (0.00)
SA6	58	8 (13.79)	36	1 (2.78)
Total	367	70 (19.07)	216	3 (1.39)

表2 不同性别的儿童腹泻样本中大肠杆菌0157: H7的患病率

Sampling Area	Male		Female	
	No. of samples	No. of positive samples (%)	No. of samples	No. of positive samples (%)
SA1	32	5 (15.63)	37	8 (21.62)
SA2	29	3 (10.34)	31	4 (12.9)
SA3	33	7 (21.21)	30	9 (30.00)

表3 研究地区儿童腹泻样本中大肠杆菌0157: H7的患病率 (按年龄段)

Sampling Area	Male		Female	
	No. of samples	No. of positive samples (%)	No. of samples	No. of positive samples (%)
SA4	28	8 (28.57)	33	9 (27.27)
SA5	25	4 (16.00)	30	3 (10.00)
SA6	30	4 (13.33)	28	4 (14.29)
Total	177	31 (17.51)	190	36 (18.95)

表4 环境和行为习惯对研究区域儿童腹泻粪便中大肠杆菌O157: H7传播的影响

Factors	sampling area						Total N=70	Frequency of occurrence (%)
	SA1	SA2	SA3	SA4	SA5	SA6		
	N=13	N=7	N=16	N=20	N=6	N=8		
Environmental								
1. DRINKING WATER *								
Surface	11	7	10	12	7	4	51	72.86
Spring	2	1	2	2	1	2	10	14.29
Borehole	3	1	5	7	1	2	19	27.14
								<i>p</i> <0.05
2. TOILET FACILITY *								
Open	9	5	11	13	4	2	44	62.86
Pit	4	2	4	9	2	5	26	37.14
Water system	0	0	1	0	0	1	2	2.86
								<i>p</i> <0.05
3 ANIMAL CONTACT *								
Ruminants	12	0	13	17	3	3	23	78.57
Pigs	2	5	4	5	2	0	13	18.57
Dogs	5	0	4	6	1	1	21	30.00
Cats	1	3	1	2	4	0	7	10.00
Chicken	10	1	14	16	3	2	50	71.43
None	0	6	0	2	0	4	6	8.57
								<i>p</i> <0.05
Behavioural Practices								
1. EATING HABITS *								
Exclusive breast feeding	1	0	1	1	0	1	4	5.71
Home dishes	12	7	14	18	6	7	65	92.86
Hawkers	6	4	11	17	4	5	47	67.14
Restaurant	2	2	5	11	2	6	8	40.00
Infant formulas	1	2	4	3	1	0	2	15.71
								<i>p</i> <0.05
2. OCCUPATION OF PARENTS/GUARDIAN*								
Farming	1	0	1	2	0	1	5	7.14
Civil (office) service	11	6	14	17	4	2	54	77.14
Business	6	2	5	6	2	5	26	37.14
Artisans	2	1	2	3	0	1	9	12.86
								<i>p</i> <0.05
3. PARENTS/GUARDIAN EDUCATION BACKGROUND								
Primary	4	2	9	7	2	2	22	31.43
Secondary	2	1	1	4	1	3	12	17.14
Tertiary	2	0	1	1	0	1	5	7.14
None	5	4	5	8	3	2	31	44.29
								<i>p</i> <0.05
4. DIARRHOEA MACROSCOPY								
Bloody	10	5	14	17	5	6	57	81.43
Non-bloody	3	2	2	3	1	2	13	18.57

N = No of diarrhoeal samples positive for *Escherichia coli* O157:H7

\* = A sample positive for more than one factor is counted as positive for each factor

因素包括：饮用水（地表水：72.86%）、厕所设施（开放：62.86%）和动物接触（反刍动物：78.57%）。高发生率的行为实践包括饮食习惯（家常菜：92.86%）、父母/监护人职业（农业：77.14%）、父母或监护人教育背景（无：44.29%）和腹泻宏观检查（血腥：81.43%）。所考虑的所有因素中的各种发生频率有显著差异（*p*<0.05）。表4显示了在使用结构化问卷样本获取数据时所考虑的每个因素的发生频率。

#### 4. 讨论

这项研究证实了尼日利亚罗斯河州选定社区的儿童中存在大肠杆菌O157: H7。腹泻病例（19.07%）和非腹泻病例（4.17%）之间的大肠杆菌O157: H7的患病率在采样区域之间存在显著差异（*p*<0.05）。此外，腹泻病例的患病率有显著差异（*p*<0.05），而非腹泻病例的发病率无显著差异（*p*>0.05）。样本地区（SA4和SA3）的患病率较高，这些地区位于人口拥挤、畜牧业发达、卫生标准相对较低的中央参议员区。该地区的一些社区已被证明是腹泻的地方病<sup>[17]</sup>。

本研究中腹泻儿童中大肠杆菌O157: H7的患病率

（19.07%）与[18]的研究结果一致，<sup>[18]</sup>对尼日利亚南部各医院的住院儿童进行了类似研究，大肠杆菌O157: H7菌株的发病率为20%。尼日利亚卡杜纳州扎里亚五（5）岁以下儿童腹泻患者中O157: H7型大肠杆菌的患病率较高（45%）<sup>[19]</sup>。[20]据报道，尼日利亚高原州部分地区腹泻患者的患病率较低，为5.00%。[21]在尼日利亚埃多州进行的一项研究中，腹泻患者的患病率低达2.7%。在伊朗伊斯兰共和国扎赫丹，<sup>[22]</sup>报告称，在322份腹泻儿童粪便样本中，分离出21个山梨醇阴性大肠杆菌菌落（6.5%）。血清分型显示4株大肠杆菌O157: H7呈阳性，其中只有2株（0.6%）菌株对抗H7呈阴性反应，并被鉴定为大肠杆菌O57: H7。不同研究的流行值差异可能是由于地理位置的差异。此外，[23]报道了使用环介导的地热扩增（LAMP）和全基因组测序（WGS）作为检测大肠杆菌O157: H7的当前诊断方法，以减少由于使用的分析方法导致的结果差异。不同的报告表明，大肠杆菌O157: H7与儿童腹泻显著相关<sup>[1, 17]</sup>。这与本研究中腹泻病例和非腹泻病例之间分离的显著差异一致。研究地区腹泻病例患病率的差异可能是由于父母或护理人员的行为习惯

所致。这也可能是由于环境因素。本研究中，非腹泻病例的患病率为4.17%。这一发现表明，在没有腹泻证据的无症状个体中可以发现大肠杆菌O157：H7肠道感染。这与[24，25]的调查结果一致。

在儿童的性别方面，儿童的性别与他们感染该生物体之间没有显著的关系。从表2中获得的结果可以推断，性别不构成五岁以下儿童感染O157：H7大肠杆菌的危险因素。这与[26]的研究结果一致，他们在研究中也报告了大肠杆菌O157：H7对两性的影响一般是平等的。然而，<sup>[18]</sup>在高原州的一些地区与人类受试者一起工作时，尼日利亚报告了男性大肠杆菌O157：H7的患病率显著高于女性，3.43%高于1.57%，尽管他的研究并不局限于儿童。

1岁以下的腹泻儿童发病率最高，为26.83% ( $p < 0.05$ )。这与[27]的观点一致，他报告发现腹泻大肠杆菌的感染率随着年龄的增长而降低。[28]、[18]和[29]也报告了较低年龄组在尼日利亚北部部分地区的人类受试者中的患病率最高。低年龄组的高隔离率可能是由于免疫系统仍在发育或暴露在不卫生的环境中。免疫力低下的受试者，如HIV/AIDS患者，也已显示出大肠杆菌O157：H7感染的高流行率<sup>[29]</sup>。

1-5岁年龄组的较大儿童患病率较低，这可能与免疫力的发展或某些特定粘附分子受体的丧失有关<sup>[30-32]</sup>。

表4显示，饮用水的来源、与动物的接触以及糟糕的厕所设施对腹泻感染构成了极大的风险，这与[10]的报告一致。这些因素最近也与非洲产志贺毒素大肠杆菌O157：H7的传播有关<sup>[33]</sup>。据观察，大多数研究社区的居民饮用水和其他生活用水大多是未经处理的地表水或未受保护的地下水。大多数家庭都有自由放养的家畜和糟糕的污水处理系统。因此，在本研究中，这些因素作为病原体传播的危险因素的含义并不令人惊讶。

## 5. 结论

本研究中大肠杆菌的流行率很高。这项研究的发现还表明，大肠杆菌O157：H7是导致儿童感染性腹泻的原因。由于感染主要通过粪-口途径发生，因此食用巴氏杀菌奶和饮用氯化水等食品卫生措施可以降低传播率。个人卫生，如母亲和看护人员在上厕所后和给孩子喂奶前用肥皂和清水洗手的习惯，将大大减少由O157：H7大肠杆菌引起的腹泻在儿童中的传播。

## 参考文献：

[1] Azar, D. K.; Sohella, K; Ahmed F. S; Ali A. and Ahmad S. (2016). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in children with bloody diarrhea. Referring to Abuzar Teaching Hospital, Ahvaz, Iran Journal of Clinical and Diagnostic

Research 10 (1):13-15.

[2] Kosek, M., Bern, C. and Guerrant, R. L. (2003). The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull WHO*. 81:197 - 204.

[3] World Health Organization (2018) *Escherichia coli* outbreaks. W. H. O. Publication Geneva Switzerland

[4] Nfongeh J. F; Epoke, J; Antai, E. E; Ikpeme, E. M; Etim, L. B; Akeh, M. and Ekpiken, S. E. (2014). The Effects of *Escherichia coli* O157:H7 lipopolysaccharide (LPS) from human, cattle and poultry isolates on haematological parameters of neonatal albino rats. *European Journal of Experimental Biology* 4 (1):538-542

[5] Ochoa, T. J., Salazar-Lindo, E. and Cleary, T. G. (2004). Management of children with infection-associated persistent diarrhea. *Semin Paediatr Infect Dis*. 15 (4):229 - 36.

[6] Sousa, C. P. (2006). *Escherichia coli* as a specialized bacterial pathogen. *Revista De Biologia E Ciências Da Terra*. 6 (2):341-349.

[7] Luo, Y., Cui, S., Li, J., Yang, J., Lin, L., Hu, C., Jin, S., Ye, L., Zhao, Q. and Ma, Y. (2011). "Characterization of *Escherichia coli* isolates from healthy food handlers in hospital", *Microbial Drug Resistance*, 17. 443-448.

[8] Stewardson, A. J., Renzi, G., Maury, N., Vaudaux, C., Brassier, C., Fritsch, E., Pittet, D., Heck, M., van der Zwaluw, K. and Reuland, E. A. (2014). "Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Hospital Food: A Risk Assessment". *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 35. 375-383.

[9] Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., Praet, N., Bellinger, D. C., De Silva, N. R. and Gargouri, N. (2015). "World Health Organization Global estimates and regional comparisons of the burden of food borne disease in 2010", *PLoS Med*, 12. e1001923.

[10] Greig, J. D., Todd, E. C. D., Bartleson, C. and Michaels, B. (2010). "Infective Doses and Pathen Carriage". USDA (2010) Food Safety Education Conference. pp. 19 - 20.

[11] Gally, D. L. and Stevens, M. P. (2017). "Microbe Profile: *Escherichia coli* O157:H7 - notorious relative of the microbiologist's workhorse". *Microbiology*. 163 (1): 1 - 3.

[12] Okeke, I. N. (2009). Regional Review Diarrheagenic *Escherichia coli* in -Saharan Africa: Status, uncertainties and necessities. *J Infect Dev Ctries*. 3: 817-842.

[13] National Bureau of Statistics. (2012). Annual



Abstract of Statistics, 2012. pp 23.

- [14] Presteri, E., Zwick, R. H., Reichmann, S., Aichelburg, A., Winkler, S. & Kremsner, P. G. (2003). Frequency and virulence properties of diarrhoeagenic *E. coli* in children with diarrhoea in Gabon. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*.69:406-410
- [15] Milley, D. G., & Sekia, L. H., (1993). An Enzyme-linked Immunosorbent Assay-based isolation procedure for verotoxigenic *E. coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. 59 (12):4223-4229
- [16] Nfongeh, J. F., Udo, S. M. and Lennox, J. A. (2005). Impact of water availability on diarrhoeal morbidity in two contrasting communities in Cross River State, Southern Nigeria. *Global Journal of Pure and Applied Sciences*. 11 (3):363-366
- [17] Egbule, O. S., Owhe-Ureghe, U. B. and Odih, E. E. (2016). Occurrence of Multidrug Resistance among *E. coli* O157:H7 Isolated from Stool Samples Obtained from Hospitalized Children. *J Prob Health* 4:150.
- [18] Sani, A., Onalapo, J. A., Ibrahim, Y. K. E., Idris, H. W., Igwe, J. C. and Nworie, A. (2015). Prevalence of *Escherichia coli* Pathotypes among Children with Diarrhoea in Zaria, Nigeria. *British Journal of Medicine & Medical Research*. 7 (1): 17-24.
- [19] Itelima, J. U., Agina, S. E., Ogbonna, A. I. and Nwaukwu, I. A. (2014). The Occurrence of *Escherichia Coli* Serotype O157: H7 among Humans in Some Parts of Plateau State, Nigeria. *Developmental Microbiology and Molecular Biology*.5 (1): 9-20.
- [20] Isibor, J. O., Afe, O. E., Regina, E. O. and Philip, O. O. (2013). *Escherichia coli* O157:H7-Prevalence and Risk Factors of Infection in Edo State, Nigeria *American Journal of Research Communication*. 3 (1): 35-49.
- [21] Fard, A. H. M., Bokaeian M. and Qureishi, M. E. (2008). Frequency of *Escherichia coli* O157:H7 in children with diarrhoea in Zahedan, Islamic Republic of Iran. *La Revue de Sant é de la M é diterran é e orientale*. (14) 5: 1022-1027.
- [22] Newell, D. G. and Ragione, R. M. (2018) Enterhaemorrhagic and other Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): where are we now regarding diagnostic and control strategies. *Transboundary and Emerging Diseases* 65 Suppl 1 (57)
- [23] Chapman, P. A., Siddons, C. A., Cerdan-Malo, A. T. and Harkin, N.M. A. (1997). A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epidemiology and Infection*. 119:245-250.
- [24] Majowicz, S. E; Scallan E. and Jones-Bitton A. (2014). Global incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections and deaths: a systematic review and knowledge synthesis. *Foodborne Pathogens and Diseases* 11 (6):447-455
- [25] Su, C. & Brandt, L. J. (1995). *Escherichia coli* O157:H7 infection in humans. *Annals of Internal Medicine* 123:698-714
- [26] Gomes, T. A., Elias, W. P., Scaletsky, I. C., Guth, B. E., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M., Ferreira, L. C. and Martinez, M. B. (2016). Diarrheagenic *Escherichia Coli*. *Braz J Microbiol*. 47 (Suppl 1):3 - 30
- [27] Gould, L. H., Walsh, K. A., Vieira, A. R., Herman, K., Williams, I. T., Hall, A. J. and Cole, D. (2013). "Surveillance for food borne disease outbreaks-United States, 1998-2008", *MMWR Surveill Summ*, 62. 1-34.
- [28] Abdulaziz, H. O; Aminu, M. and Machido A (2016). Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 in Human stool samples from parts of Kaduna Metropolis, Nigeria. *American Journal of Food Science and Technology* 4 (5):125-128
- [29] Reuben, C. R. and Gyar S. D. (2015). Isolation and Antibiogram of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from Diarrhoeic HIV/AIDS patients in Lafia Central Nigeria. *International Research Journal of Microbiology* 6 (2):20-26.
- [30] Moyo, S. J., Gro, N., Matee, M. I., Kitundu, J., Myrmel, H., Mylvaganam, H., Maselle, S. Y. and Langeland, N. (2011). Age specific aetiological agents of diarrhoea in hospitalized children aged less than five years in Dar es Salaam, Tanzania. *BMC Pediatr*.11:19.
- [31] Nataro, J. P. and Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 11:142 - 201.
- [32] Patzi-Vargas, S., Zaidi, M. B., Perez-Martinez, I., Leon-Cen, M., Michel-Ayala, A., Chaussabel, D. and Estrada-Garcia, T. (2015). Diarrheagenic *Escherichia Coli* carrying supplementary virulence genes are an important cause of moderate to severe diarrhoeal disease in Mexico. *PLoS Negl Trop Dis*. 9 (3): e0003510.
- [33] Kosek. M., Bern, C. and Guerrant, R. L. (2003). The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull WHO*. 81:197 - 204.