

Thèse
Pour l'obtention du grade de Docteur délivré par

L'Université de Lille

Spécialité : Parasitologie

Présentée et soutenue publiquement par

Timothé GUILAVOGUI

Le 19 Décembre 2024

**Parasitoses intestinales en Guinée : Épidémiologie moléculaire
des protozoaires *Blastocystis* et *Cryptosporidium* et implication
de ces microorganismes dans les modifications du microbiote
intestinal**

Membres du jury

Directrice de thèse : **Dr Gabriela CERTAD** (Institut Pasteur de Lille, France)

Co-Directeur de thèse : **Dr Éric VISCOGLIOSI** (Institut Pasteur de Lille, France)

Rapporteurs : **Pr Sébastien MONCHY** (Université du Littoral Côte d'Opale, France)
Pr Anne TOTET (Université de Picardie Jules Vernes, Amiens, France)

Examinatrice : **Pr Isabelle FLORENT** (Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, France)

Remerciements

Cette thèse vient combler un vide dans ma carrière en assouvissant ma passion pour la recherche. La réalisation de cette thèse a été rendue possible grâce à l'implication et la bienveillance de personnes à qui je voudrais exprimer toute ma reconnaissance dans ces lignes.

Je remercie en premier lieu ma directrice de thèse Dr Gabriela CERTAD pour la qualité de son encadrement, sa simplicité et sa rigueur scientifique et tout particulièrement ses conseils, qui ont contribué à l'enrichissement de ce document. Je vous garderai toujours dans ma pensée.

Je remercie également mon co-directeur de thèse, Dr Éric VISCOGLIOSI, qui m'a accepté dans l'Équipe Écologie et Physiopathologie des Protozoaires Intestinaux au sein de l'Institut Pasteur de Lille. En plus de cet accueil, son attention particulière et sa disponibilité m'ont assurées de l'issue favorable de ce projet de thèse.

Je tiens également à témoigner ma reconnaissance aux personnes suivantes pour leur aide précieuse dans la réalisation de cette thèse :

- Mon Frère Akoi KOIVOGUI, qui a été la première personne à m'encourager à me lancer dans ce projet et qui par ailleurs a servi de contact avec l'Institut Pasteur de Lille. Je te dédie la réussite de ce projet et te garde dans mon cœur.
- A Noel Tambada GUILAVOGUI et Aboubacar Sidiki CAMARA, que j'appelle affectueusement les ouvriers. Ils sont les artisans de cette réussite de par leur appui technique tout le long de cette thèse. Vos contributions ont été déterminantes.
- Les personnels de l'Hôpital National Ignace Deen et du Centre de santé d'Anastasis pour la qualité de leur collaboration et toutes les facilités qu'ils m'ont accordées

Je ne saurais terminer sans un mot de reconnaissance à l'attention de ma famille. D'abord mon épouse, Madame GUILAVOGUI, Clarice Enema, la force tranquille, pour son soutien et mes filles et particulièrement l'ainée pour l'organisation logistique de tout ce vaste chantier qu'a été ma thèse.

Enfin, cette thèse n'aurait pu être menée sans le soutien financier de l'Institut Pasteur de Lille, de l'Université de Lille, du CNRS et de l'Inserm.

Résumé

Les parasitoses intestinales ont un impact majeur en santé publique en particulier dans les pays en voie de développement où ces infections sont endémiques et restent l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans la population. Les pays de l'Afrique sub-saharienne sont ainsi les plus touchés en lien avec des conditions sanitaires précaires et un système d'assainissement de l'eau de consommation défaillant associés à une pauvreté et une promiscuité favorisant la transmission et l'expansion de ces parasitoses. Pourtant, ces infections restent encore largement sous-estimées dans de nombreux pays africains comme la Guinée. Aussi une première revue a permis d'évaluer la situation vis à vis des maladies tropicales négligées qui représentent une priorité du Ministère de la Santé guinéen. En faisant abstraction des helminthiases, ce panorama ne prenait pas en compte les parasitoses intestinales. Aussi, à travers une revue systématique et une méta-analyse, un bilan de leur prévalence a été dressé en Guinée mais les données concernant l'impact potentiel des protozoaires intestinaux comme *Blastocystis* sp. et *Cryptosporidium* spp. étaient quasi inexistantes. De larges enquêtes épidémiologiques de terrain ont alors été menées dans la région de Conakry afin d'obtenir, via l'utilisation de méthodes moléculaires, les premières valeurs de prévalence et données de sous-typage des isolats pour ces deux protozoaires. La prévalence très élevée (78%) observée pour *Blastocystis* sp. au sein d'une cohorte de 500 individus mettait en avant une circulation très active de ce parasite dans la population guinéenne. De plus, le sous-typage des isolats présents montrait une prédominance très marquée des sous-types (STs) anthroponotiques (ST1-ST4) de *Blastocystis* sp. en lien avec une large transmission inter-humaine. En parallèle, l'identification d'un nombre significatif d'isolats de ST14 adapté aux bovins suggérait une transmission zoonotique significative. Concernant *Cryptosporidium* spp., sa prévalence dans un groupe de plus de 800 participants n'était que de 0,12% avec un seul isolat de *C. hominis* caractérisé. Cependant, cette fréquence était cohérente avec celles déjà rapportées dans certains pays africains en analysant des populations globales et non des groupes de jeunes enfants plus susceptibles à cette infection. En lien avec la fréquence élevée de *Blastocystis* sp., une première étude en Guinée a été réalisée sur l'impact de la colonisation par ce protozoaire sur le microbiote intestinal. Cette colonisation a un impact significatif sur le microbiote intestinal bactérien, et un impact beaucoup moins prononcé sur le microbiote eucaryotique. Cette étude apportait ainsi

une nouvelle preuve de l'impact bénéfique des STs anthroponotiques de *Blastocystis* sp. sur le microbiote intestinal, la colonisation par le protozoaire étant associée à des effets positifs sur la diversité et la composition bactérienne de cet écosystème. Toutes ces données épidémiologiques seront accessibles pour les autorités sanitaires guinéennes afin de sensibiliser la population à cette problématique de santé publique et mettre en place des mesures de contrôle et de prévention afin de limiter l'impact des parasitoses intestinales.

Abstract

Intestinal parasitic infections have a major impact on public health, particularly in developing countries where these infections are endemic and remain one of the primary causes of morbidity and mortality in the population. Sub-Saharan African countries are the most affected, due to poor sanitation conditions and inadequate drinking water sanitation systems, combined with poverty and crowded living conditions that facilitate the transmission and spread of these parasitic infections. Yet, these infections remain largely underestimated in many African countries, such as Guinea. An initial review helped assess the situation regarding neglected tropical diseases, which are a priority for the Guinean Ministry of Health. However, this overview did not include intestinal parasitic infections, focusing instead on helminthiases. Therefore, a systematic review and meta-analysis were conducted to evaluate the prevalence of these infections in Guinea. However, data on the potential impact of intestinal protozoa like *Blastocystis* sp. and *Cryptosporidium* spp. were almost non-existent. Consequently, large-scale field epidemiological surveys were conducted in the Conakry region to obtain, using molecular methods, the first prevalence rates and subtyping data for these two protozoa. A very high prevalence (78%) of *Blastocystis* sp. was observed in a cohort of 500 individuals, highlighting an active circulation of this parasite within the Guinean population. Additionally, subtyping of the isolates revealed a marked predominance of anthroponotic subtypes (ST1-ST4) of *Blastocystis* sp., indicative of extensive human-to-human transmission. In parallel, the identification of a significant number of ST14 isolates, which are adapted to cattle, suggested notable zoonotic transmission. Concerning *Cryptosporidium* spp., its prevalence in a group of over 800 participants was only 0.12%, with a single *C. hominis* isolate identified. However, this frequency aligns with those reported in other African countries when examining general populations rather than young children, who are more susceptible to this infection. In relation to the high prevalence of *Blastocystis* sp., the first study in Guinea was conducted on the impact of colonization by this protozoan on the intestinal microbiota. This colonization significantly impacts the bacterial gut microbiota, with a much less pronounced effect on the eukaryotic microbiota. This study thus provided new evidence of the beneficial impact of anthroponotic STs of *Blastocystis* sp. on the gut microbiota, as colonization by the protozoan was associated with positive effects on the diversity and bacterial composition of this ecosystem. All these epidemiological data

will be available to Guinean health authorities to raise public awareness on this public health issue and implement control and prevention measures to limit the impact of intestinal parasitic infections.

**Production
scientifique et
formations**

Durant la période 2020-2024 correspondant à mon doctorat, j'ai été premier auteur ou co-auteur des publications suivantes :

Publications en lien avec mon projet de thèse :

- **Guilavogui T**, Gantois N, Desramaut J, Cissé FI, Touré SC, Kourouma BL, Chabé M, Viscogliosi E, Certad G. *Cryptosporidium* spp frequency in general population in Guinea: first large-scale screening study. Parasite 2024 sous presse
- **Guilavogui T**, Gantois N, Even G, Desramaut J, Dautel E, Denoyelle C, Cissé FI, Touré SC, Kourouma BL, Sawant M, Chabé M, Certad G, Viscogliosi E. Detection, molecular identification and transmission of the intestinal protozoa *Blastocystis* sp. in Guinea from a large-scale epidemiological study conducted in the Conakry area. Microorganisms 2022, 10, 446. doi: 10.3390/microorganisms10020446
- **Guilavogui T**, Verdun S, Koïvogui A, Viscogliosi E, Certad G. Prevalence of intestinal parasitosis in Guinea: Systematic review of the literature and meta-analysis. Pathogens 2023, 12, 336. doi: 10.3390/pathogens12020336
- Cherif MS, Keita M, Dahal P, **Guilavogui T**, Beavogui AH, Diassy L, Conde M, Touré A, Delamou A. Neglected tropical diseases in Republic of Guinea: disease endemicity, case burden and the road towards the 2030 target. Int Health 2023, 15, 490-504. doi: 10.1093/inthealth/ihad036

Publications en lien avec mes activités hospitalières :

- Bisanzio D, Keita MS, Camara A, **Guilavogui T**, Diallo T, Barry H, Preston A, Bangoura L, Mbounga E, Florey LS, Taton JL, Fofana A, Reithinger R. Malaria trends in districts that were targeted and not-targeted for seasonal malaria chemoprevention in children under 5 years of age in Guinea, 2014–2021. BMJ Glob Health 2024, 9, e013898. doi: 10.1136/bmjgh-2023-013898
- Leno NN, Guilavogui F, Camara A, Kadio KJO, **Guilavogui T**, Diallo TS, Diallo MA, Leno DWA, Ricarte B, Koita Y, Kaba L, Ahiatsi A, Touré N, Traoré P, Chaloub S, Kamano A, Vicente CA, Delamou A, Cissé M. Retention and Predictors of Attrition

Among People Living With HIV on Antiretroviral Therapy in Guinea: A 13-Year Historical Cohort Study in Nine Large-Volume Sites. *Int J Public Health* 2023, 68, 1605929. doi: 10.3389/ijph.2023.1605929

- Beavogui AH, Camara A, Delamou A, Diallo MS, Doumbouya A, Kourouma K, Bouedouno P, **Guilavogui T**, Dos Santos Souza S, Kelley J, Talundzic E, Fofana A, Plucinski MM. Efficacy and safety of artesunate-amodiaquine and artemether-lumefantrine and prevalence of molecular markers associated with resistance, Guinea: an open-label two-arm randomised controlled trial. *Malar J* 2020, 19, 223. doi: 10.1186/s12936-020-03290-w
- **ACCESS-SMC Partnership (Guilavogui T)**. Effectiveness of seasonal malaria chemoprevention at scale in west and central Africa: an observational study. *Lancet* 2020, 396, 1829-1840. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32227-3

Durant ma thèse, j'ai participé aux congrès et séminaires suivants :

- Communication orale au « PhD students'day - Journée André Verbert 2021 », Université de Lille.
- Communication orale au congrès conjoint de la SoAP (Société Africaine de Parasitologie), SAV (Société Africaine de Venimologie), SFMTSI (Société Francophone de Médecine Tropicale et Santé Internationale), SCP (Société Camerounaise de Parasitologie) et CaSE (Cameroon Society of Epidemiology), 1er au 3 décembre 2021, Yaoundé, Cameroun
- Communication orale au congrès CRWAD (Conference of Research Workers in Animal Diseases), 3 au 7 Décembre 2022, Chicago, États Unis

Parallèlement à mes travaux de recherche et mes activités professionnelles, j'ai participé à 15 formations totalisant 64 crédits sur les 60 demandés par l'école doctorale Lilloise. Ci-dessous la liste des formations suivies par catégorie :

Catégorie : Formations méthodologiques et interdisciplinaires
--

<ul style="list-style-type: none"> ☛ Atelier comprendre la science: Éveiller son esprit critique (27 janvier 2022 - 27 janvier 2022) Crédits : 2
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Initiation à la recherche participative (10 février 2023) Crédits : 4
<p>Total du nombre de Crédits/Points pour la catégorie Formations méthodologiques et interdisciplinaires : 6</p>
<p>Catégorie : Formations numériques</p>
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Déposer et diffuser sa thèse de doctorat à l'heure de la Science Ouverte (campus Moulins) (07 mai 2021 - 7 mai 2021) Crédits : 2
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Déposer et diffuser sa thèse de doctorat à l'heure de la Science Ouverte - session 3 (27 avril 2022) Crédits : 2
<p>Total du nombre de Crédits/Points pour la catégorie Formations numériques : 4</p>
<p>Catégorie : Gestion de projet</p>
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Aspects financiers du montage de projet en entreprise (08 février 2023 - 8 février 2023) Crédits : 4
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Financement de la recherche sur projets (01 avril 2021) Crédits : 6
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Financement de la recherche sur projets (27 mars 2023) Crédits : 6
<p>Total du nombre de Crédits/Points pour la catégorie Gestion de projet : 16</p>
<p>Catégorie : Communication</p>
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Communiquer sa recherche auprès du grand public (06 février 2023 - 7 février 2023) Crédits : 7
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Journée André Verbert 2021 - Colloque des doctorants Faculté de médecine de Lille - Pôle Recherche Crédits : 2
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Publier aujourd'hui: quelles opportunités dans le contexte de la science ouverte ? BSL - SMRE (31 mars 2021) Crédits : 4
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Savoir créer la relation avec de futurs partenaires (29 mars 2023) Crédits : 7
<p>Total du nombre de Crédits/Points pour la catégorie Communication : 20</p>
<p>Catégorie : Enseignement</p>
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Déontologie des enseignants du supérieur (18 juin 2021 - 18 juin 2021) Crédits : 2
<p>Total du nombre de Crédits/Points pour la catégorie Enseignement : 2</p>
<p>Catégorie : Entrepreneuriat</p>

<ul style="list-style-type: none"> ☛ Révéler le potentiel entrepreneurial des doctorants - Session 4 (24 février 2022 - 2 mars 2022) Crédits : 10
<p>Total du nombre de Crédits/Points pour la catégorie Entrepreneuriat : 10</p>
<p>Catégorie : Poursuite de carrière</p>
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Atelier de l'APEC: Travailler à l'international Session 2 (28 mars 2023 - 28 mars 2023) Valenciennes Crédits : 2
<ul style="list-style-type: none"> ☛ Droit du travail dans le secteur privé- Session 2 (25 mai 2021) Crédits : 4
<p>Total du nombre de Crédits/Points pour la catégorie Poursuite de carrière : 6</p>
<p>Total des Crédits/Points de Thèse : 64</p>

Sommaire

Introduction	1
Analyse bibliographique	2
1. Quelques généralités sur la République de Guinée	2
Situation géographique, régions et climat	2
Situation démographique	3
Situation socio-économique	3
Approvisionnement en eau potable et conditions sanitaires	3
Analyse du système de santé	4
Lutte contre les maladies tropicales négligées (MTNs)	5
<u>Article 1</u> : Neglected tropical diseases in Republic of Guinea: Disease endemicity, case burden, and the road towards 2030 target	8
2. Les parasites intestinaux, un problème de santé publique	36
3. Quelques généralités concernant <i>Blastocystis</i> sp.	37
Morphologie et cycle biologique	37
Taxonomie et diversité génétique	40
Méthodes de détection	42
Prévalence dans la population humaine	44
Distribution des STs dans la population humaine	46
Fréquence et distribution des STs dans la population animale et potentiel zoonotique	48
Modes de transmission	51
Pathogénicité et traitement	52
Impact de la colonisation sur le microbiote intestinal de l'hôte	56

4. Quelques généralités sur <i>Cryptosporidium</i> spp.	57
Description morphologique et pathogénicité	57
Biologie et cycle de vie	59
Taxonomie, diversité génétique et spécificité d'hôte	60
Epidémiologie et transmission	61
Situation de la cryptosporidiose en Afrique	63
Physiopathologie	69
Manifestations cliniques	70
Traitement	72
Objectifs	74
Résultats	75
<u>Article 2</u> : Prevalence of Intestinal Parasitosis in Guinea: Systematic Review of the Literature and Meta-Analysis	75
<u>Article 3</u> : Detection, Molecular Identification and Transmission of The Intestinal Protozoa <i>Blastocystis</i> sp. in Guinea from a Large-Scale Epidemiological Study Conducted in the Conakry Area	111
<u>Article 4</u> : <i>Cryptosporidium</i> spp. prevalence in general population in Guinea: first large-scale screening study	145
<u>Article 5</u> : Impact de <i>Blastocystis</i> sp. sur le microbiote intestinal des patients Guinéens	165
Discussion	177
Conclusion	187
Références bibliographiques	189

Introduction

Médecin épidémiologiste et Directeur National des Grandes Endémies et de Lutte contre la Maladie (DNGELM) au Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique de Guinée à Conakry, je suis également enseignant à la Faculté des Sciences et Techniques de la Santé de Conakry. Dans le cadre de mes fonctions, j'ai eu l'opportunité de coordonner six programmes de santé nationaux, dont le programme national de lutte contre les maladies tropicales négligées (PNLMNT) qui représentent un problème de santé publique majeur en Guinée comme dans la plupart des pays en voie de développement. Parmi ces maladies négligées, les parasitoses intestinales ont un impact largement sous-estimé dans la population guinéenne. En effet, les difficultés de diagnostic rencontrées en lien avec l'inexpérience du personnel de laboratoire médical et un manque de moyens techniques et financiers ne permettent pas de mettre en place, dans les hôpitaux, des méthodes moléculaires puissantes de détection des parasites intestinaux et en particulier, les protozoaires entériques. Ces constatations m'ont alors motivé à réaliser un doctorat en France plus particulièrement focalisé sur l'étude des protozoaires intestinaux *Blastocystis* et *Cryptosporidium* en Guinée. Ce projet de thèse a été mené à temps partiel et principalement à distance compte tenu de mes fonctions actuelles au Ministère de la Santé de mon Pays.

Par ailleurs, la pandémie liée à la COVID-19 a eu un impact majeur sur l'évolution de mon travail de thèse avec de fortes limitations dans les déplacements pour me rendre en France ou participer à des congrès ou des formations. Ces difficultés ont eu pour conséquences la tenue obligatoire de réunions en visioconférence, la limitation des contacts physiques et l'obligation de différer certaines activités de ma thèse en faveur d'autres plus urgentes comme la participation à des réunions de crise au Ministère de la Santé et le contrôle sanitaire au niveau des ponts aériens d'entrée sur le territoire guinéen.

Analyse bibliographique

1. Quelques généralités sur la République de Guinée

Situation géographique, régions et climat

La République de Guinée dont la capitale est Conakry est un pays côtier situé en Afrique de l'ouest, entre la Guinée Bissau au nord-ouest, le Sénégal au nord, l'océan Atlantique à l'ouest, la Sierra Leone et le Liberia au sud et la Côte d'Ivoire et le Mali à l'est.

Ce pays a une superficie de 245 857 Km² incluant 4 zones naturelles: la basse Guinée (Guinée maritime), la moyenne Guinée (située dans les montagnes), la haute Guinée (des plaines de savane) et la Guinée forestière. Sur le plan administratif, le pays est compris de 8 régions, à savoir les régions de Conakry, Boké, Kindia, Labé, Mamou, Kankan, Faranah et N'Zérékoré. Elle compte également 38 préfectures réparties inégalement entre les régions administratives. Le pays connaît 2 saisons à savoir une saison sèche et une saison pluvieuse avec une durée de 6 mois chacune.

Situation démographique

En 2017, le pays comptait environ 11 millions et demi d'habitants avec une densité de 47 habitants par kilomètre carré et une croissance démographique de 2,4% par an. Selon les projections, la population pourrait dépasser les 14 millions en 2025. Cette démographie présente de fortes disparités géographiques (Haute Guinée, 16,4% de la population ; Basse Guinée, 41,0% ; Moyenne Guinée, 27,6% ; Guinée Forestière, 15,0%). A elle seule, la région de Conakry accueille 15,7 % de la population guinéenne. L'espérance de vie est relativement basse puisqu'elle est de 61,4 ans tout sexe confondu. Les femmes représentent 52 % de la population qui est très jeune puisque 44% des guinéens ont moins de 15 ans et seulement 4% plus de 65 ans. La majorité de la population (64%) vit en zone rurale presque exclusivement de l'agriculture et de l'élevage. La taille moyenne d'une famille guinéenne est d'environ 6 personnes (Institut National de la Statistique–RGPH2014, République de Guinée. Enquête Démographique et de Santé 2018 ; Enquête Harmonisée sur les Conditions de Vie des Ménages 2019).

Situation socio-économique

La population guinéenne est caractérisée par un faible niveau d'instruction puisque près de 69 % des femmes et 45 % des hommes ne sont pas lettrés en français. En 2018, 13,8 % des

personnes pauvres vivaient avec moins de 1,90 \$ par jour et seuls 2 % des femmes et 2 % des hommes âgés de 15 à 49 ans étaient couverts par une assurance maladie. L'enquête unifiée sur les conditions de vie des ménages en 2019 montrait que 43,7% de la population vivait en dessous du seuil de pauvreté (INS Rapport Final EHCVM GUINEE, 2020). Même si la Guinée est un pays riche en ressources naturelles (bauxite, or, diamant, pétrole...), il n'occupe que la 178^{ème} place selon le classement de l'indice de développement (Institut National de la Statistique–RGPH2014, République de Guinée. Enquête Démographique et de Santé 2018 ; Enquête Harmonisée sur les Conditions de Vie des Ménages 2019).

Approvisionnement en eau potable et conditions sanitaires

En Guinée, près de 80% de la population utilise une source d'eau dite améliorée (eau du robinet, fontaines publiques, puits à pompe, forages, puits creusés, sources protégées et eau de pluie). Le pourcentage de ménages ayant accès à ce type de source d'approvisionnement est légèrement plus élevé à Conakry que dans les autres villes du pays (98,9% contre 96,4%). En termes de disponibilité, l'eau du robinet ou fournie par des puits à pompe n'est pas disponible au moins deux fois par mois. Le temps moyen pour accéder à une source d'eau améliorée est de 30 minutes (aller-retour) pour 31% de la population guinéenne.

En Guinée, 52% des ménages utilisent des toilettes améliorées, 33% en milieu rural et 87% en milieu urbain. Ce pourcentage atteint 94% à Conakry et 81% dans les autres villes. On observe également que seules 13% des personnes utilisent des toilettes à domicile. Bien que le lavage des mains constitue un moyen sûr pour prévenir certaines maladies transmissibles, seules 21% des toilettes disposent d'un endroit pour se laver les mains (Institut National de la Statistique–RGPH2014, République de Guinée. Enquête Démographique et de Santé 2018 ; Enquête Harmonisée sur les Conditions de Vie des Ménages 2019).

Analyse du système de santé

Le système national de santé est organisé selon un principe pyramidal et comprend 4 sous-secteurs : public, parapublic, privé et communautaire. Concernant le sous-secteur public, il inclut un niveau national, 8 inspections régionales de santé et 38 directions préfectorales de santé. Sur le plan des structures sanitaires, le pays compte 410 centres de niveau primaire et 925 postes de santé, 41 hôpitaux de niveau secondaire (HR, HP, CMC) et un hôpital national tertiaire. Le sous-secteur parapublic comprend lui une pharmacie et quatre

hôpitaux appartenant à des sociétés minières et agricoles. Pour ce qui est du secteur privé, il est composé d'organisations à but lucratif et non lucratif (ONG et organisations à confession religieuse). Dans le cadre de la continuité des services de santé, plusieurs cycles ont été mis en place dans le cadre de la santé de la mère (santé néonatale, santé infanto-juvénile, santé pré-conceptuelle et grossesse, accouchement, post-natal, petite enfance, prévention enfance et prise en charge curative).

Les problèmes et défis liés à la santé restent l'élévation de la mortalité des enfants, la faiblesse dans la prévention des maladies y compris les cas d'épidémies et la faible qualité des prestations de soins. De plus, le système de santé souffre de la faiblesse de la gouvernance politique et organisationnelle. À cela s'ajoute la faible couverture des interventions, la faiblesse du système d'information sanitaire surtout en termes de qualité des données, la faible disponibilité des intrants de santé et l'insuffisance du financement de la santé. A ce niveau, les ménages payent le lourd fardeau des dépenses en santé. Le défi majeur reste donc l'atteinte d'une couverture sanitaire universelle. (Plan national de développement sanitaire 2015-2024).

Lutte contre les maladies tropicales négligées (MTNs)

Les MTNs ont un impact majeur en santé publique en Guinée alors que peu d'attention est pour l'instant portée par les autorités sur cette problématique. A ce jour, ces MTNs englobent 8 pathologies à savoir l'onchocercose, le trachome, la filariose lymphatique, la schistosomiase, la géohelminthiase, la lèpre, la trypanosomiase humaine africaine (THA) et l'ulcère de Buruli. Comme indiqué sur les cartes ci-dessous, ces pathologies sont inégalement réparties sur le territoire guinéen. Le trachome est ainsi plus répandu en haute et en moyenne Guinée.

La Filariose lymphatique a par contre été rapportée plus généralement sur le territoire puisque identifiée dans dix préfectures sur 38 (Figure 3). De même, l'onchocercose sévit dans plus de 85% de la surface du pays

En Guinée il existe aussi une lutte conjointe contre la schistosomiase et les géohelminthiases et les parasites responsables sont observés dans tout le pays.

La lèpre quant à elle avait une prévalence de 0,21 cas pour 10.000 habitants fin 2014. Globalement, tous les districts sanitaires ont atteint le seuil d'élimination de la lèpre c'est-à-dire moins d'un cas pour 10.000 habitants. Pour ce qui est de la THA, elle est plus répandue

en zone côtière même si d'anciens foyers dans d'autres régions sont en réactivation. Enfin, l'ulcère de Buruli est essentiellement observé en Guinée forestière.

La lutte contre les MTNs se fait actuellement à travers 2 programmes respectivement de chimiothérapie préventive et de prise en charge des cas. Les principaux défis à relever restent une formation de qualité du personnel à la prise en charge, l'insuffisance des financements surtout de l'État, le suivi-évaluation des activités, l'approvisionnement des médicaments de façon pérenne et l'insuffisance des centres spécialisés de prise en charge des complications.

Pour donner une vue d'ensemble de la situation des MTNs en Guinée, j'ai publié une revue focalisée sur les 8 MTNs identifiées par le programme national de contrôle guinéen ainsi que sur d'autres parasitoses émergentes ou existantes (Article 1 ci-dessous).

Article 1 : Cherif MS, Keita M, Dahal P, **Guilavogui T**, Beavogui AH, Diassy L, Conde M, Touré A, Delamou A. Neglected tropical diseases in Republic of Guinea: disease endemicity, case burden and the road towards the 2030 target. *Int Health* 2023, 15, 490-504

Résumé

Les maladies tropicales négligées (MTNs) touchent principalement les populations vulnérables et marginalisées des zones tropicales et subtropicales et affectent globalement plus d'un milliard de personnes à travers le monde. En Guinée, l'impact des MTNs est estimé à >7,5 DALY (disability-adjusted life years) par million d'habitants. Actuellement, le plan directeur guinéen sur les MTNs (2017-2022) a identifié huit maladies comme étant des problèmes de santé publique dans le pays : l'onchocercose, la filariose lymphatique, le trachome, la schistosomiase et l'helminthiase transmise par le sol, la lèpre, la trypanosomiase humaine africaine (THA) et l'ulcère de Buruli (UB). Dans cette revue, nous discutons du passé et de l'impact actuel des MTNs prioritaires en Guinée, soulignons les principales étapes et discutons des domaines d'intérêt actuels et futurs pour atteindre l'objectif de 2030 défini par l'OMS.

Ma contribution dans cette étude

- Participation à la mise en place de cette étude
- Enregistrement et analyse des données
- Participation à la rédaction de l'article

Neglected tropical diseases in Republic of Guinea: Disease endemicity, case burden, and the road towards 2030 target

Mahamoud Sama Cherif ^{a,b,h}, Mory Keita ^{c,j}, Prabin Dahal ^d, Timothé Guilavogui ^e, Abdoul Habib Beavogui ^{a,f}, Lamine Diassy ^g, Mohamed Conde ^h, Abdoulaye Touré ^{a,i}, Alexandre Delamou ^{a,f}

^a Faculty of Sciences and Health Technics, Gamal Abdel Nasser University of Conakry, Conakry, Guinea

^b Directeur Régional de la Santé de Faranah, ministère de la Santé et de l'hygiène publique, Guinée

^c World Health Organization, Regional Office for Eastern Mediterranean, Cairo, Egypt

^d Centre for Tropical Medicine and Global Health, University of Oxford, Oxford, UK

^e Management and Programmes coordination, Ministry of Health-Republic of Guinea, Conakry, Guinea

^f Centre National de Formation et Recherche en Santé Rurale de Maferinyah, Maferinyah, Guinea

^g World Health Organization, Guinea office, Landreah, Corniche Nord, Boîte postale 817, Conakry, Guinea

^h Service de pédiatrie, hospital national Ignace Deen, ministère de la Santé et de l'hygiène publique, Guinée

ⁱ Institut National de santé publique, ministère de la Santé et de l'hygiène publique, Guinée
^j Institute of Global Health, Faculty of Medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland

Abstract

Neglected tropical diseases (NTDs) predominantly affect vulnerable and marginalized populations in tropical and subtropical areas and globally affect more than a billion people. In Guinea, the burden of NTDs is estimated to be >7.5 DALYs per million inhabitants. Currently, the Guinea NTDs Master plan (2017-2022) has identified eight diseases as a public health problem in the country: onchocerciasis, lymphatic filariasis, trachoma, schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis, leprosy, human African trypanosomiasis (HAT), and Buruli ulcer (BU). In this review, we discuss the past and the current case burden of the priority NTDs in Guinea, highlight the major milestones and discuss current and future areas of focus for achieving the 2030 target outlined by the WHO.

Introduction

Neglected tropical diseases (NTDs) predominantly affect vulnerable and marginalized populations in tropical and subtropical areas and globally affect more than a billion people [1]. To prevent and control the NTDs, the WHO launched its first road map in 2012 [2]. Substantial gain made in the last decade include: 500 million fewer people requiring interventions against NTDs in 2020 compared to that in 2010, and 40 countries, territories and areas have eliminated at least one NTD [1]. The 2020 WHO roadmap built on the achievements of the first WHO roadmap has outlined several targets to be achieved by the year 2030 [1]. The overarching target is to achieve a 90% reduction in number of people requiring interventions against NTDs, at least 100 countries to have eliminated at least one neglected tropical disease, eradicate two *diseases (yaws and guinea worm)*, and achieve a 75% reduction in the DALYs related to NTDs [1]. In Guinea, the National Program for the Control of NTDs was launched in 2018 that drafted the Guinea NTDs master plan (2017–2020) to combat eight NTDs that was considered as a public health problem: *Onchocerciasis, Lymphatic Filariasis (LF), Trachoma, Schistosomiasis and Soil-transmitted Helminthiasis (STH), Leprosy, Human African Trypanosomiasis (HAT), and Buruli ulcer (BU)* [3]. In addition to the recognisable burden of malaria and high neonatal mortality [4–6], Guinea also bears a substantial burden of NTDs with an estimated DALYs of 7.5 per million inhabitants attributed to the NTDs [1, 7]. In this review, we discuss the past and the present situation of the eight NTDs identified by the Guinean national control program along with other emerging or existing infections, highlight major milestones and discuss current and future areas of focus for achieving the 2030 target.

Priority NTDs in Guinea: burden and progresses:

Onchocerciasis (river blindness):

Onchocerciasis is a major infectious cause of blindness in the world. The Onchocerciasis Control Program in West Africa (OCP) launched in 1974 has led to a steady decline in the global burden of the disease. The OCP initially began in 7 countries (Benin, Burkina Faso, Cote d'Ivoire, Ghana, Mali, Niger and Togo) with the objective to eliminate *onchocerciasis* as a disease of public health concern. Prior to Guinea joining the OCP in 1986, the transmission was hyper-endemic with a very high disease prevalence (>60% prevalence in Upper Guinea in 1980s- and 20,000-blind people) [3, 8]. A large-scale survey carried out in late 1980s as part of the OCP estimated a high burden of onchocerciasis; 14 villages in Guinea were identified as

hyper-endemic with an overall disease prevalence of 65% and blindness prevalence of 6.5% [9, 10]. In order to reduce the burden of the disease, the implementation of the OCP in Guinea began in 1987 and the program ran until 2002 in two distinct phases. During the first phase (1987–1997), larviciding was carried out and Ivermectin treatment was administered by a mobile team of health workers. This combined use of vector control and Ivermectin led to a rapid interruption of the transmission [11]. In the second phase (1997–2002), the control activities focused on larviciding with Ivermectin treatment delivered under community directives (CDTI). From 2002 onwards, control activities have been implemented under CDTI. The success of OCP program has led to a reduction of the prevalence of onchocerciasis in Guinea from 43–88% during the period of hyper-endemic transmission to 0–15% in 2002 [3].

From 2003, the fight against *onchocerciasis* and other causes of blindness, including *Trachoma*, were merged into a single program called the National Onchocerciasis and Blindness Control Program (PNLOC). To sustain the control activities, 2,570,255 million Guinean received Ivermectin treatment in 2009. Although the disease was considered endemic in Guinea until 2015[12], Onchocerciasis is now no longer a major public health concern in Guinea. A recent modelling study has indicated a high environmental suitability index for the disease transmission in most regions of Guinea expected the western coastal regions [13]. Guinea has just completed the MDA with Ivermectin in 23 out of 38 districts with the last round completed in Sep-2022.

Lymphatic Filariasis (elephantiasis):

In Guinea, the *Lymphatic Filariasis* (LF) elimination program was initiated in 2000 after the WHO launched its global elimination program [14]. A survey carried out across 46 sites in 2005 found a median disease prevalence of 0.5% [range: 0.0–23.0%] [15]. In 2013, the NTDs masterplan reported a prevalence of circulating filarial antigens of *W. bancrofti* to be between 4.5%–46.3% and microfilariae prevalence of 3.0%–6.7% [16]. There has been a gradual reduction in the prevalence of LF in the past two decades: the estimated prevalence was 2–5% during 2000–2010 and <2% during the period 2010–2018 [17]. In 2013, 0.5% of the total population required preventative chemotherapy [18]. Mass drug administration activities have been highly successful with an achievement of 100% geographical coverage in 2020 [19]. Resistance to *permethrin* and *deltamethrin* has been identified in Faranah and can be a challenge for the vector control activities [20].

Blinding trachoma:

Guinea was one of the five countries that accounted for nearly half of the global burden of active *trachoma* [21]. In 2011, the disease prevalence among children aged less than 10 years was 33% in a large nationwide survey [3]. Most of the surveys conducted during the 2010–2019 period indicate an overall disease prevalence of less than 5% in most of the survey locations except in Faranah and Dinguiraye that had a high prevalence range of 30.0–49.9% in 2011 [22]. The country has implemented several components of the WHO-supported SAFE (surgery for treatment of advanced cases, antibiotics for follicular stage, facial cleanliness and environmental improvement) strategy since 2004. Mass drug treatment with azithromycin and tetracycline ophthalmic ointment (preventive chemotherapy) began in 2013 and covered the 9 health districts of the Upper Guinea region where the prevalence of *follicular trachoma* is greater than 10%. A target date of 2015 was set for elimination of blinding *trachoma* [2]. However, *trachoma* continues to be a major public health problem as it is endemic in 31 of the 38 health districts and 3.6 million people needing treatment in 2018 with estimated treatment coverage of 35% [23]. National trachoma mapping surveys (27 surveys) were conducted during 2011–2016 which reported an adjusted prevalence of trachomatous inflammation-follicular (TF) that ranged from 1.0%–41.8%, while the adjusted point prevalence of *trachomatous trichiasis* (TT) ranged from 0.0% to 2.8%, and an estimated 32,737 individuals required TT surgery [24]. The fight against trachoma is a major priority for the national control program, especially in the Upper Guinea region where the disease remains hyper endemic.

Schistosomiasis (bilharzia):

Schistosomiasis has been a major public health problem in Guinea with different surveys carried out between 1930s through to 1980s indicating a high prevalence of the disease (See Table 1). In Guinea, it is present in two major forms: the urinary disease caused by *Schistosoma haematobium* and the intestinal disease caused by *S. mansoni*. Transmission risk is high throughout the country, especially in the Upper Guinea region where rice farming provides a suitable niche for the intermediate host (snail) [25]. In 1995, the prevalence of *S. mansoni* and *S. haematobium* among schoolchildren were 25% and 19.9%, respectively [26]. A survey carried out a decade later (2009–2010), the disease prevalence ranged from 23.5% to 49.6% for *S. haematobium* and 30.2% to 47.5% for *S. mansoni* [3]. During 1996–2007, praziquantel,

mebendazole, iron and folic acid donated by the WHO and the World Bank was the *cornerstone of the schistosomiasis control* program. In 2018, 4.03 million population required preventative chemotherapy including 1.76 million children of school age [27]. Treatment coverage of preventative chemotherapy remains sub-optimal with a national PC coverage of 33.6% in 2012, 31.2% in 2016, 42.7% in 2017, and 47.1% in 2018 [27]. Currently, all 38 districts are endemic for the disease.

Soil-transmitted Helminths (STHs):

All 38 districts are considered endemic for STHs [3]. Among children of school-age, the prevalence of *hookworm (A. duodenale)*, *whipworm*, and *roundworm* to were 43.9%, 13.9% and 9.5% respectively in 1995 [26]. From 2000 onwards, among population aged <20 years, the estimated combined prevalence of *hookworm*, *whipworm* and *roundworm* was 26.2% [95% CI: 21.9–31.4] [28]. *Hookworm* is the most prevalent *helminth* (21.9%: 95% CI: 17.3–26.9) followed by *roundworm* (3.8: 95% CI: 2.6–6.0) and *whipworm* (1.7%: 95% CI: 1.0–3.9). This translates to nearly 1.24 million cases STHs every year. Annually, an estimated 1.4 million doses of *anthelmintic* doses are required for school-aged children [28]. Interrupting the transmission of STH is considered highly unfeasible in Guinea and therefore STH will continue to be a major NTD for foreseeable future [29].

Leprosy:

Leprosy, a disease caused by *Mycobacterium leprae*, *predominantly* affects the skin and the peripheral nerves that can lead to long-term disabilities. The disease is associated with stigma, especially when deformities are present. In 1988, the prevalence was 1.2% in pita, a town in Fouta Djallon, middle guinea [30]. In 1990, the prevalence of *leprosy* was nearly 12 cases per 10,000 inhabitants [3]. Leprosy elimination campaign was organised in 1997 with launch of several targeted programs. This led to achieving elimination target (<1 case per 10,000 residents) in all 38 health districts [3]. The overall country prevalence was 0.21 cases per 10,000 inhabitants in 2014. Case detection system remains passive and in high prevalence villages, leprosy-days are organised. Disability percentages among incidence cases remain high (9% in 2008) [3]. The national leprosy control program has targeted to prevent 100% disability and provide physical rehabilitation for mutilated cases [3]. Recently, dapson and

rifampicin resistant *leprosy* has been identified [31]; this is a major concern as treatment options for resistant cases are limited.

Human African trypanosomiasis (sleeping sickness):

Human African trypanosomiasis (HAT) is caused by the parasite *Trypanosoma brucei* which is transmitted by tsetse flies belonging to genus *Glossina*. Two subspecies of *T.brucei* are pathogenic for humans: *T.b. gambiense* and *T.b. rhodesiense*. In West Africa, HAT is caused by the former species [32]. The number of HAT cases has decreased by 95% between 2000 and 2018 and the WHO has targeted to interrupt the transmission of the disease (to zero cases) by 2030 [33]. Guinea has the largest number of HAT cases observed among West African countries. A total of 7.5% of the Guinean land area is considered at risk of *T.b. gambiense* and this translates to nearly a 25% of the population living at risk [34]. Transmission occurs mainly in the coastal regions with mangrove ecosystems (e.g: Boffa prefecture has the highest incidence in Guinea) - rice culture and attendance of pirogue jetties are associated with higher transmission risk [32, 35]. Annually, there are less than 150 cases reported to the WHO for the past three decades; the burden used to be much higher at the earlier half of the century[36]. The 2014-2015 EVD outbreak deeply impacted the HAT control activities with a direct impact on its surveillance and diagnosis; this led to an increase in DALY burden by at least 150 [37]. Subsequent intensification of the activities has led to a decline in cases [38]. Elimination target is likely to be achieved as the National Sleeping Sickness Control Program has been carrying out integrated vector control and medical interventions activities in collaboration with The Trypa-NO! partnership [38, 39]. Major challenge remains the elimination of the disease from the regions with mangrove systems that harbours the main vector for transmission (*Glossina palpalis gambiensis*) [32, 40]. The identification of skin a potential reservoir that has been previously unaccounted for and may need to be considered as a part of future control activities as the elimination goal is closer to being realised [41].

Buruli ulcer (BU):

Several areas of the country, especially the coastal regions in western parts of the country are predicted to be suitable for BU [42, 43]. From 2002 to 2018, a total of 1,582 cases were notified to the WHO by the Guinean health services with 108 cases in 2018 [44]. The Guinean government has identified three of the 38 health districts as being suspected endemic [3].

NTDs that are not identified as priority diseases:

Snakebite envenoming (SE):

The burden of SE prior to 2000s remains unclear with only a handful of annual deaths reported in the 1950s [45]. In 2005, there were 6 million people at risk of SE and a total of 8,000 cases were treated [46]. A global mapping study in 2018 estimated that 518,883 people were at risk of exposure to one or more venomous snake species and 427,253 were at risk of exposure to a snake for which no effective therapy exists [47]. The following venomous snake species are found in Guinea: *Atheris chlorechis* (West African bush viper), *Bitis arietans* (Puff adder), *Bitis nasicornis* (Rhinceros viper), *Bitis rhinoceros* (West African Gaboon viper), *Dendroaspis polylepis* (Black mamba), *Dendroaspis viridis* (Western green mamba), *Dispholidus typus* (Boomslang), *Echis jageri* (Joger's carpet viper), *Naja katiensis* (West African brown spitting cobra) [48]. A fifth of the envenomations are due to Elapids and the case fatality rate ranges between 15% to 27% [49]. Annually SE leads to 159 (95% CI: 126–193) deaths, 192(118–327) amputations with the DALY burden estimated at 11344 (8800–14296) [50]. The unavailability of antivenom and a high treatment cost remains a major problem throughout the country except in Kindia – a region with one of the highest reported incidence of snakebites in the world [46, 51]. At the only dedicated snakebite clinic in Guinea located in Kindia region, approximately 700 cases are reported with annually [52]. However, the actual number of reported cases is likely to be underestimated as many people may not seek treatment due to the potential financial burden [52].

Scorpion envenoming:

The burden of scorpion envenomation remains unknown but is considered to be highly under-reported; a case series described 75 cases during 2010–2012 in Conakry [53]. Mortality is considered to be lower than that from snakebite envenomation [54].

Dengue:

Currently, there is a moderate level of evidence consensus of the presence Dengue virus (DENV) in Guinea [55] and low-intermediate transmission risk [56]. DENV- serotype 2 was reported in 1981 [57] and in 1996 [58], and a case was identified in Faranah in 2006 [59]. An estimated 192,067 apparent cases in 2010 was reported in a modelling study [18, 60].

Chikungunya:

There is a good consensus on the presence of *chikungunya virus* (CHIKV) in Guinea with a high environmental suitability for the transmission of the virus [61]. CHIKV outbreak occurred in 1992 [62] and 8 confirmed/suspected cases of CHIKV were reported in 2006 [59]. There are no recent reports on CHIKV although outbreaks have been documented in neighbouring Senegal in 2015 [63] and Sierra Leone in 2012 [64].

Yaws:

Guinea was endemic for *Yaws* in the 1940s with a total of 32,900 cases identified in 1948 [65]. Mass treatment campaigns in the 1950s and 1960s had led to a global decline in the burden of *Yaws* by 95% [66]. However, there was resurgence in Africa after curtailment of control activities in the 1970s and 1980s. A total of 1232 cases were reported to the WHO during 1974-1976 [67] with a further 789 cases reported from 1977-1982 [68]. In 2018, there were 3,652 suspected cases (none were confirmed) [69]. In 2019, the disease was identified in a wild Chimpanzee in the Sangaredi area [70].

Mycetoma:

Despite Guinea falling within the “Mycetoma belt” [71], the burden of the disease remains unknown. Description of the disease is limited to case reports among citizens living aboard. In 2010, two cases of Mycetoma were reported in Guinean females [72]. Another case report described Eumycetoma caused by *Exophiala jeanselmei* in a 29-year-old Guinean female (resident in France for last 10 years) –the infection could have been acquired in Guinea through percutaneous contamination [73].

Taeniasis:

Taenia solium is suspected to be endemic in 2018 with pig population of 104,000 including the practice of backyard pig production [74]. Infection with *Taenia solium* (pork tapeworm) can cause the intestinal infection Taeniasis that has no major impact on human health. Ingestion of *T. solium* eggs via the fecal-oral route, or by ingesting contaminated food or water) causes infection in human with the larval parasite in muscles, skin, eyes and the central nervous system (human cysticercosis). *Taenia* spp. were identified in 3.8% of the

schoolchildren in a national survey in 1995 (species were not described) [26]. *Dracunculiasis* (Guinea worm disease): Certification of eradication of *Dracunculiasis* was received in 2009 [75, 76].

Rabies:

Guinea has one of the largest burden of *human rabies* with mortality rate of >3 deaths per 100,000 population [77]. Nearly 8,000 incidents of animal bites were reported in Conakry during an 11 years study period (2002–2012) [78].

Yellow Fever:

Outbreaks of *Yellow fever* have been reported between 2006-2010 with a total of 80 cases identified including 74 confirmed cases during an outbreak in 2005 [79]. Four suspected cases of *Yellow fever* were reported from the Faranah region (between Jan-Feb 2022; IgM negative eventually). There was one confirmed case identified in Dec 2022 (Faranah region); further 2 suspected cases were reported in Jan 2023 (Faranah region; waiting for diagnostic confirmation) (personal communication: MSC). The disease is transmitted by *Aedes aegypti*, a mosquito species widely abundant in Guinea thus providing suitability for the transmission of *Yellow fever*.

Discussion:

Guinea has implemented several programmes to combat NTDs in the past 50 years. Major achievement during this period includes certification of eradication of *Dracunculiasis* in 2009 [75, 76]; absence of confirmed reports of the Yaws in recent years [69]; and *onchocerciasis* is no longer considered a major public health concern [12]. Eradication of the former two diseases (*yaws and dracunculiasis*) is one of the objectives of the WHO 2030 roadmap and Guinea is well-positioned to achieve this. As part of a synergic action and pooling of resources, the Ministry of Health decided in 2018 to group all NTDs into a single program called the National Program for the Fight against NTDs. Lessons learnt from these programs should be applied across the other disease programs as several challenges still exist.

Interrupting the transmission of STH is considered highly unfeasible in Guinea and therefore STH will continue to be a major NTD for foreseeable future [29]. Recently, dapson and rifampicin resistant leprosy has been identified in a study among 24 patients [31]. This is

a major concern as there are limited alternatives for the treatment of rifampicin resistant cases. Despite an impressive control of *trachoma*, elimination of the disease from the regions with mangrove systems currently remains the main challenge [32, 40]. Active screening and effective implementation of vectors can help achieving zero transmission targeting by 2030 [80].

HAT is likely to meet the 2030 target of zero transmission; active screening of cases to tackle the human reservoir and effective implementation of tsetse fly vector control measures remains the key [80, 81]. The development of *Fexinidazole* as an oral treatment for both the stages of g-HAT (first-stage and second-stage) is an important development [82]; effective treatment compliance might be the key [83]. HAT cases are generally low but the burden appears to be mostly in coastal region. A targeted active surveillance will lead to early identification of patients at stage 1 as passively diagnosed patients are more likely to present with later stages of the disease [84]. The recent identification of identification of skin a potential reservoir needs to be considered as a part of future control activities for g-HAT [41].

There are also further immediate challenges that threaten the different NTD programmes: recurrent EVD outbreaks, the rampant usage of counterfeit medicines, and the ongoing COVID-19 pandemic. Unlike the Ebola Virus Disease (EVD) outbreak that remains relatively localised, the ongoing COVID-19 pandemic has disrupted the programmes throughout the country. Guinea was one of the first countries in Africa to resume the mass drug administration program during the COVID-19 pandemic without causing an observed increase of transmission [85]. The resumption of activities has coincided with the rainy season and poor road conditions could have impeded the implementation progress [86].

Sales of counterfeit medicines occur regularly despite government's crackdown [87, 88]. More than 100,000 cases of death per year are thought to be due to fake or falsified drugs according to government officials [89]. Despite a high burden attributed to counterfeit and sub-standard medicines, it remains largely neglected. Lessons learnt from the cross-border collaboration (Mano River union) between Sierra Leone, Liberia, Guinea and Ivory Coast to combat Onchocerciasis in West Africa can be useful [90]. More of such initiatives are required to combat the NTDs in the region as several diseases have resurfaced after initial success in the 1960s such as HAT [36] – therefore sustained and coordinated control activities remain important.

Finally, only eight diseases are currently identified as major public health concerns in the Guinean NTDs masterplan. Several diseases with a high burden currently remain under-recognized. For example, Guinea has a large burden of rabies with mortality of >3 deaths per 100,000 population [77], snakebite envenoming is clearly an under-recognised cause [47], especially in the Kindia prefecture [91]. The control program should consider including these NTDs as part of the national surveillance program.

Conclusions:

Guinea has made several important progresses towards combating neglected tropical diseases, especially against yaws, dracunculiasis, onchocerciasis, trachoma, and leprosy. Combatting the NTDs through a nationally coordinated effort while dealing with the epidemic threats posed by viral illnesses should be the national priorities.

List of abbreviations

- SE Snakebite envenoming
- DENV Dengue Virus
- LF Lymphatic filariasis
- AMA African Medicines Agency
- NTDs Neglected tropical diseases
- OCP Onchocerciasis Control Program in West Africa
- CDTI Ivermectin treatment delivered under community directives
- BU *Buruli Ulcer*

Declarations

Authors' contributions

All authors listed on the manuscript have contributed significantly to design of the review and interpretation of the data presented in this review. All authors have contributed to the writing of the manuscript including reviewing the draft and revised version of the manuscript. All authors have read and approved the final version.

Ethics approval

Not applicable

Availability of data and materials

All the data used are available within tables presented in the manuscript.

Competing interests

All authors declare that they have no competing interests.

Funding

The review was not funded.

Table 1: Eight NTDs listed in the Guinean NTDs program Priority list

NTDs	Endemicity	At risk/Prevalence/Case burden	Treatment coverage
Onchocerciasis (River blindness)	1990s: Macenta district in Forest region was meso-to-hyper endemic in the late 1990s [92, 93] 2020: The disease is currently classified as being endemic [94]	Prevalence: Overall national prevalence of 43-88% in 1980s and 0-15% in 2002 [3] An estimated ~7 million population required preventive chemotherapy annually between 2017-2020 [94]	81% in 2009 with 2,570,255 million Ivermectin treatment [3] 72% in 2017 to 75% in 2018; 0% in 2019 [23]
LF	Endemic as of 2020 [19]	Prevalence: 2005: Median prevalence of 0.5% [range: 0-23.0%] [15] 2013: prevalence of circulating filarial antigens of <i>W. bancrofti</i> of 4.5 % –46.3% and microfilariae prevalence of 3.0 %–6.7% [16] 2000-2018: Estimated prevalence was 2- 5% during 2000-2010 and <2% during the period 2010-2018 [17]	Chemotherapy requirement: 2013: 0.5% of the total population required preventive chemotherapy [18] Treatment Coverage: 76% in 2017 and 79% in 2018 [23] 0% in 2019 among 7.48 million people needing treatment [23] MDA Coverage: MDA implemented with 100% geographical coverage as of 2020 [19]
Trachoma	Endemic	Population at risk: 3 million (2007) [21] 2011-2016: The population at risk of trachoma in the 18 health districts with a TF prevalence rate of ≥5% was estimated at 6,220,504 (USAID’s report 2020) Prevalence:	92% in 2017 to 35% in 2018 [23]

		<p>2004: Prevalence of active trachoma was found to be 5%–23% in Kankan area, East Guinea [95]</p> <p>2011-2016: National trachoma mapping surveys (27 surveys) [24] reported an adjusted prevalence of trachomatous inflammation-follicular (TF) that ranged from 1.0%-41.8% and adjusted point prevalence of trachomatous trichiasis (TT) ranged from 0.0% to 2.8%, and an estimated 32,737 individuals required TT surgery</p> <p>2012: Studies from Global Trachoma Mapping project found a TF prevalence of 4.3% among aged 1-9 years and TT prevalence of 0.3% among adults ≥ 15 years [96]</p>	
Schistosomiasis	Endemic	<p>Population at risk: Population requiring preventative chemotherapy:1.96 million (2010); 3.67 million (2015); 4.03 million (2018) [27] In 2019, 1.76 million school-aged children required treatment for Bilharzia [23]</p> <p>Prevalence:1939: Prevalence of <i>S. haematobium</i> was 32-40% in Eastern Guinea and 30% in Western Guinea; <i>S. mansoni</i> prevalence of 68% (Source: 1987 Atlas [25]) 1955: 20% of the population infected with <i>S. haematobium</i> in 1955(Source: 1987 Atlas [25]) 1982: Eastern Guinea survey found <i>S. mansoni</i> prevalence of 57.9% in Guekedou, 48.0% in Macenta, 43.1% in Faranah, 41.8% in Nzerekore; 13.8% in Kerouane, 17.6% in Kankan, 17.7% in Dabola (Source: 1987 Atlas [25]) 1995: Prevalence in schoolchildren: <i>S. mansoni</i> (25%), <i>S. haematobium</i> (19.9%) [3] 1997: Prevalence of 9.1% for urinary schistosomiasis among children across seven prefectures [97] 2009-2010: 23.52% in Middle Guinea and 49.6% in Upper Guinea for urinary schistosomiasis; 30.22% in Middle Guinea and 47.5% in Upper Guinea for intestinal schistosomiasis [3]</p>	<p>National coverage of 33.6% in 2012, 31.2% in 2016, 42.7% in 2017, and 47.1% in 2018 [27] In 2019, 1.76 million school-aged children required treatment for Bilharzia but none received treatment [23]</p>

		2010: Cross-sectional survey in Beyla and Macenta prefectures, Forest Guinea found <i>S. haematobium</i> prevalence of 21% and <i>S. mansoni</i> prevalence of 66% [98]	
Soil-transmitted helminthiasis	All 38 districts are considered endemic [3]	1989: A survey carried out in Futa Djallon highlands found 10.4% helminths infection in Daka, Labe; 24.7% in Timbi Madina and 47.7% in Sombili [99] 1997: Prevalence of 60% for soil-transmitted nematodes among children across seven prefectures [97] From 2000 onwards, among aged <20 years, prevalence of Hookworm (21.9%: 95% CI: 17.3 – 26.9), roundworm (3.8: 95% CI: 2.6 – 6.0) and whipworm (1.7%: 95% CI: 1.0 – 3.9) [98] 2010: Cross-sectional survey in Beyla and Macenta prefectures, Forest Guinea found hookworm prevalence of 51%; <i>Ascaris lumbricoides</i> prevalence of 8.1% and <i>Trichuris Trichiura</i> prevalence of 2.4% [98] In 2019, 2.38 million pre-school and school-aged children required treatment for intestinal worms; but only 900K received treatment [23]	Not known In 2019, 2.38 million pre-school and school-aged children required treatment for intestinal worms; but only 900K received treatment [23]
Leprosy	Endemic	Prevalence: 12 per 10,000 residents in 1990 0.58 per 10,000 residents in 2008 0.21 per 10,000 residents in 2014 More than 150 cases have been reported annually since 2005 (Source: https://apps.who.int/gho/data/node.main.A1639?lang=en)	Very rare
HAT	Endemic	Population at risk: 25.9% of the population at risk (using 2011 census data, this translates to 2.7 million population) [34] Reported case burden: 4,002 cases during 1932–1934; 19,334 cases in 1939 85,659 cases during 1940–1953; 865 cases were reported during 1990–2004 period [36] 2005: prevalence of 0.9% (91/9637) in the mangrove areas [100]	Not known

		<p>2007-2010: Prevalence of 2.4 cases per 1000 inhabitant (31 cases out of 12,867 screened) in Forecariah district in coastal Guinea [101]</p> <p>2012-2016: 154 cases reported between 2012-2013 and 59 cases detected during the Ebola outbreak in the coastal Guinea region [37]</p> <p>For the past three decades, less than 150 cases are reported annually to the WHO data observatory</p>	
<i>Buruli Ulcer</i>	Three of the 38 health districts as being suspected endemic [3]	<p>Notified cases: From 2002 to 2018, a total of 1,582 cases were notified to the WHO [44]</p> <p>Incidence: Annual incidence of BU from 2011-2017 of 0.83 cases per 100,000 population [102]</p>	No data available on antimicrobial coverage between 2011-2017 [102]

Tableau 2: NTDs that are currently not on the priority list in Guinean NTDs program
Priority list

NTDs	Endemicity	Burden of the disease (Case burden/mortality/DALYs)
Snakebite and scorpion envenoming	Endemic	<p>2005: 6 million at risk; 100 to 150 envenomation per 100,000 inhabitants per year, with a lethality 18% and 2% amputations [46]</p> <p>2018: 518,883 at risk of exposure to one or more venomous snake species and 427,253 at risk of exposure to any snakes for which no effective therapy exists [47]</p> <p>2019: 20% of the envenomations are due to Elapids and the case fatality rate ranges between 15% to 27% [49]</p> <p>Modelling study: Annual Deaths: 159 (95% CI: 126–193)[50]; Annual Amputations: 192(118–327) [50] DALYs : 11344 (8800–14296) [50]</p> <p>Data from Kindia prefecture: 1980-1990: 584 snakebite cases with 2.2% case fatality rate [91] 1997-1999: 379 cases reported with 18.2% death, 2.1% amputations [91]</p>

		<p>2002-2003: Household survey reported 175 cases were reported [103]</p> <p>2003-2004: 76 cases were treated at the Pasteur institute, Kindia [104]</p> <p>2009-2010: 238 cases were treated at the Pasteur institute, Kindia [56]</p> <p>2020: Approximately 700 cases are annually reported [52]</p>
Dengue	<p>Not clear</p> <p>(Under surveillance; epidemic prone disease)</p>	<p>2010: Estimated mean apparent cases of 192,067 and mean inapparent cases of 593,001 [18, 60]</p> <p>Sporadic case reports:</p> <p>A case of DENV reported in 1981 [57]; serologically detected Dengue cases in a viral survey from 1990s (described in Stoler et al 2014 [105]);</p> <p>Four cases in 1996 [58]; One case in Faranah regional hospital in 2006 [59]</p>
Chikungunya	<p>Good consensus on the presence of Chikungunya virus with a high environmental suitability for the transmission [61]</p> <p>(Under surveillance; epidemic prone disease)</p>	<p>Case burden not known; Only sporadic case reported in the literature</p> <p>An outbreak occurred in 1992 (no details presented; See Table 2 of Powers-2007 [106])</p> <p>A case of CHIKV reported in 1996 [58]; 8 cases (4 confirmed; 4 suspected cases) reported in 2006 [59]</p>
Yaws	<p>Previously endemic; current status is not clear</p> <p>(Under surveillance; Diagnosis is the problem as the disease is very rare in Guinea)</p>	<p>32,900 cases identified in 1948 [65]</p> <p>A total of 1232 cases reported to the WHO regional office during 1974-1976 [67]</p> <p>Further 789 cases were reported to the WHO during 1977-1982 [68]</p> <p>In 2018, there were 3,652 suspected cases (no reports of confirmed cases) [69]</p> <p>In 2019, the disease was identified in a wild Chimpanzee in the Sangaredi area [70]</p>
Mycetoma	<p>Endemic as Guinea falls within the “Mycetoma belt” [71]</p> <p>(Under surveillance)</p>	<p>Case burden not known; Only sporadic case reported in the literature</p> <p>2010: Two cases of Mycetoma among two Guinean females’ resident in Cote d’Ivoire was reported (although the origin of infection is unclear) [72]</p> <p>2013: A case report of Eumycetoma in a 29-year old Guinean female resident in France—the infection could have been acquired in Guinea through percutaneous contamination [73]</p>
Taenia Solium	<p>Suspected Endemic in 2018 [107]</p> <p>Inconsistent information on porcine cysticercosis (Challenge with diagnosis)</p>	<p>Taenia spp. identified in 3.8% of the schoolchildren in a 1995 survey (species not described) [26]</p> <p>Pig population of 1,04,000 reported to the WHO observatory in 2016 with practice of backyard pig production reported in 2016 (https://apps.who.int/gho/data/node.main.NTDT SOL?lang=en)</p>

Leishmaniasis	Endemic for cutaneous Leishmaniasis [108] Non-endemic for Visceral Leishmaniasis with no autochthonous cases in 2018 [108]	A case of cutaneous leishmaniasis reported in Kamsar in 1977 [109]; No further data available
Scabies	-	Age-standardized DALY of 20-50 per 100,000 people [110]
Rabies	Endemic [62, 77]	Mortality rate of >3 deaths per 100,000 population [77]
Guinea Worm Disease	Not endemic; Certification of eradication achieved in 2009 [75, 76]	Eradicated

References

1. World Health Organization. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals – A road map for neglected tropical diseases 2021–2030. Geneva, Switzerland; 2020.
2. WHO. Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases: A roadmap for implementation. Geneva, Switzerland; 2012.
3. Ministère de la Santé: République de Guinée. Plan Directeur De Lutte Contre Les Maladies Tropicales Négligées En Guinée (2017- 2020). <https://espen.afro.who.int/countries/guinea>. 2017.
4. Cherif MS, Dahal P, Mansoor R, Camara F, Bah A, Kone A, et al. Morbidity and mortality outcomes in neonates who were transferred from home and hospitals to the only neonatal intensive care unit in Guinea: a descriptive report using routinely collected health data. *Int Health*. 2019;:1–8.
5. Condé I, Cherif MS, Dahal P, Hyjazi ME, Camara F, Diaby M, et al. Neonatal and postneonatal tetanus at a referral hospital in Kamsar, Guinea: a retrospective audit of paediatric records (2014–2018). *Int Health*. 2021;:1–7.
6. Cherif MS, Dahal P, Beavogui AH, Delamou A, Lama EK, Camara A, et al. Malaria epidemiology and anti-malarial drug efficacy in Guinea: a review of clinical and molecular studies. *Malar J*. 2021;20:1–11.
7. Uniting to Combat NTDs. Africa league table: Reporting progress on NTDs amenable to mass treatment in the African Union. 2021. <https://unitingtocombatntds.org/africa/>. Accessed 9 Mar 2021.
8. Boatin B, Molyneux DH, Hougard JM, Christensen OW, Alley ES, Yameogo L, et al. Patterns of epidemiology and control of onchocerciasis in West Africa. *J Helminthol*. 1997;71:91–101.
9. De Sole G, Baker R, Dadzie KY, Giese J, Guillet P, Keita FM, et al. Onchocerciasis distribution and severity in five West African countries. *Bull World Health Organ*. 1991;69:689–98.
10. Evans TG. Socioeconomic consequences of blinding onchocerciasis in West Africa. *Bull World Health Organ*. 1995;73:495–506.
11. Guillet P, Seketeli A, Alley ES, Agoua H, Boatin BA, Bissan Y, et al. Impact of combined large-scale ivermectin distribution and vector control on transmission of *Onchocerca volvulus* in the Niger basin, Guinea. *Bull World Health Organ*. 1995;73:199–205.
12. World Health Organization. Onchocerciasis: Factsheet. 2020. <https://www.afro.who.int/health-topics/onchocerciasis>. Accessed 20 Dec 2020.

13. Cromwell EA, Osborne JCP, Unnasch TR, Basáñez M, Gass KM, Barbre KA, et al. Predicting the environmental suitability for onchocerciasis in Africa as an aid to elimination planning. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:1–23.
14. Kouassi BL, Barry A, Heitz-Tokpa K, Krauth SJ, Goépogui A, Baldé MS, et al. Perceptions, knowledge, attitudes and practices for the prevention and control of lymphatic filariasis in Conakry, Republic of Guinea. *Acta Trop*. 2018;179 December 2017:109–16.
15. Expanded Special Project for Elimination of Neglected Tropical Disease. Guinea Lymphatic Filariasis Site Level Map Data - ESPEN. <https://espen.afro.who.int/countries/guinea>. 2020. <https://espen.afro.who.int/countries/guinea>. Accessed 19 Dec 2020.
16. Kouassi BL, De Souza DK, Goepogui A, Narh CA, King SA, Mamadou BS, et al. Assessing the presence of *Wuchereria bancrofti* in vector and human populations from urban communities in Conakry, Guinea. *Parasites and Vectors*. 2015;8:1–9.
17. Local Burden of Disease 2019 Neglected Tropical Diseases Collaborators. The global distribution of lymphatic filariasis, 2000–18: a geospatial analysis. *Lancet Glob Heal*. 2020;8:e1186–94.
18. Hotez PJ. Neglected tropical diseases in the ebola-affected countries of West Africa. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9:1–5.
19. Deribe K, Bakajika DK, Zoure HM-G, Gyapong JO, Molyneux DH, Rebollo MP. African regional progress and status of the program to eliminate lymphatic filariasis : 2000 – 2020. *Int Health*. 2021;13 Suppl.1:S22–7.
20. Stica C, Jeffries CL, Irish SR, Barry Y, Camara D, Yansane I, et al. Characterizing the molecular and metabolic mechanisms of insecticide resistance in *Anopheles gambiae* in Faranah, Guinea. *Malar J*. 2019;18:1–15.
21. Mariotti SP, Pascolini D, Rose-Nussbaumer J. Trachoma : global magnitude of a preventable cause of blindness. *Br J Ophthalmology*. 2009;93:563–8.
22. <https://www.trachomaatlas.org/>. Global Atlas of Trachoma. 2020. <https://atlas.trachomadata.org/>. Accessed 20 Dec 2020.
23. Uniting to Combat NTDs coalition. Guinea and neglected tropical diseases: Mass treatment coverage for NTDs in 2018. <https://unitingtocombatntds.org/africa/guinea/>. 2020. <https://unitingtocombatntds.org/africa/guinea/>. Accessed 19 Dec 2020.

24. Géopogui A, Badila CF, Baldé MS, Nieba C, Lamah L, Reid SD, et al. Baseline trachoma prevalence in Guinea: Results of national trachoma mapping in 31 health districts. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12:1–15.
25. CEGET-CNRS/OMS-WHO. Atlas of the global distribution of schistosomiasis. 1987.
26. Gyorkos TW, Camara B, Kokoskin E, Carabin H, Prouty R. [Survey of parasitic prevalence in school-aged children in Guinea (1995)]. *Sante*. 1996;6:377–81.
27. World Health Organization. PCT databank: Schistosomiasis. 2020. https://www.who.int/neglected_diseases/preventive_chemotherapy/sch/en/. Accessed 28 Dec 2020.
28. Karagiannis-Voules DA, Biedermann P, Ekpo UF, Garba A, Langer E, Mathieu E, et al. Spatial and temporal distribution of soil-transmitted helminth infection in sub-Saharan Africa: A systematic review and geostatistical meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2015;15:74–84.
29. Brooker SJ, Nikolay B, Balabanova D, Pullan RL. Global feasibility assessment of interrupting the transmission of soil-transmitted helminths: A statistical modelling study. *Lancet Infect Dis*. 2015;15:941–50.
30. Bouree P, Carre N, Drahmane S. [Guinea: detection of leprosy and treatment by polychemotherapy]. *Bull Soc Pathol Exot Fil*. 1988;81:683–91.
31. Avanzi C, Busso P, Benjak A, Loiseau C, Fomba A, Doumbia G, et al. Transmission of drug-resistant leprosy in Guinea-Conakry detected using molecular epidemiological approaches. *Clin Infect Dis*. 2016;63:1482–4.
32. Courtin F, Jamonneau V, Camara M, Camara O, Coulibaly B, Diarra A, et al. A geographical approach to identify sleeping sickness risk factors in a mangrove ecosystem. *Trop Med Int Heal*. 2010;15:881–9.
33. WHO. Trypanosomiasis, human African (sleeping sickness): Key facts. 2020.
34. Simarro PP, Cecchi G, Franco JR, Paone M, Diarra A, Ruiz-Postigo JA, et al. Estimating and Mapping the Population at Risk of Sleeping Sickness. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6.
35. Kagbadouno MS, Camara M, Rouamba J, Rayaisse JB, Traoré IS, Camara O, et al. Epidemiology of Sleeping Sickness in Boffa (Guinea): Where Are the Trypanosomes? *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6.
36. Courtin F, Jamonneau V, Duvallet G, Garcia A, Coulibaly B, Doumenge JP, et al. Sleeping sickness in West Africa (1906-2006): Changes in spatial repartition and lessons from the past. *Trop Med Int Heal*. 2008;13:334–44.

37. Camara M, Ouattara E, Duvignaud A, Migliani R, Camara O, Leno M, et al. Impact of the Ebola outbreak on *Trypanosoma brucei gambiense* infection medical activities in coastal Guinea, 2014-2015: A retrospective analysis from the Guinean national Human African Trypanosomiasis control program. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11:2014–5.
38. Camara O, Biéler S, Bucheton B, Kagbadouno M, Ndung’u JM, Solano P, et al. Accelerating elimination of sleeping sickness from the guinean littoral through enhanced screening in the post-Ebola context: A retrospective analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021;15:1–18.
39. Ndung’u JM, Boulangé A, Picado A, Mugenyi A, Mortensen A, Hope A, et al. Trypa-no! contributes to the elimination of gambiense human african trypanosomiasis by combining tsetse control with “screen, diagnose and treat” using innovative tools and strategies. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020;14:1–9.
40. Courtin F, Camara O, Camara M, Kagbadouno M, Bucheton B, Solano P, et al. Sleeping sickness in the historical focus of forested Guinea: Update using a geographically based method. *Parasite.* 2019;26:0–12.
41. Camara M, Soumah AMM, Ilboudo H, Travillé C, Clucas C, Cooper A, et al. Extravascular Dermal Trypanosomes in Suspected and Confirmed Cases of gambiense Human African Trypanosomiasis. *Clin Infect Dis.* 2021;73:12–20.
42. Simpson H, Deribe K, Tabah EN, Peters A, Maman I, Frimpong M, et al. Mapping the global distribution of *Buruli ulcer*: a systematic review with evidence consensus. *Lancet Glob Heal.* 2019;7:e912–22.
43. Simpson H, Tabah EN, Phillips RO, Frimpong M, Maman I, Ampadu E, et al. Mapping suitability for Buruli ulcer Buruli ulcer at fine spatial scales across africa: A modelling study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021;15.
44. Global Health Observatory data repository. Number of new reported cases of Buruli ulcer by country. 2019. <https://apps.who.int/gho/data/node.main.A1631>. Accessed 30 Dec 2020.
45. Swaroop S, Grab B. Snakebite mortality in the world. *Bull World Health Organ.* 1954;10:35–76.
46. Chippaux J. Evaluation de la situation épidémiologique et des capacités de prise en charge des envenimations ophidiennes en Afrique subsaharienne francophone. *Bull Soc Pathol Exot.* 2005;98:263–8.
47. Longbottom J, Shearer FM, Devine M, Alcoba G, Chappuis F, Weiss DJ, et al. Vulnerability to snakebite envenoming: a global mapping of hotspots. *Lancet.* 2018;392:673–84.

48. World Health Organization. Venomous snakes distribution. 2010. <https://apps.who.int/bloodproducts/snakeantivenoms/database/>. Accessed 2 Jan 2021.
49. Baldé MC, Chippaux J-P, Boiro MY, Stock RP, Massougbodji A. Use of antivenoms for the treatment of envenomation by Elapidae snakes in Guinea, Sub-Saharan Africa. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2013;19:6.
50. Habib AG, Kuznik A, Hamza M, Abdullahi MI, Chedi BA, Chippaux JP, et al. Snakebite is Under Appreciated: Appraisal of Burden from West Africa. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9:4–11.
51. Balde MC, Mane Y, Trape J. [A survey on the venomous snakes of the vicinity of Kindia (Guinea) and considerations on the treatment of snakebite]. *Med Trop (Mars)*. 2009;69:37–40.
52. Brandehoff N, Benjamin JM, Balde C, Chippaux JP. Ketamine for pain control of snake envenomation in Guinea: A case series. *Toxicon*. 2020;187 September:82–5.
53. Sako FB, Bangoura EF, Traoré FA, Soumah MM, Tounkara TM, Djessanglar R, et al. Les envenimations scorpioniques traitées dans le service des maladies infectieuses et tropicales de l'hôpital national Donka, Guinée. *Bull la Soc Pathol Exot*. 2014;107:323–6.
54. Isbister GK, Bawaskar HS. Scorpion envenomation. *N Engl J Med*. 2014;371:457–63.
55. Brady OJ, Gething PW, Bhatt S, Messina JP, Brownstein JS, Hoen AG, et al. Refining the Global Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6.
56. Aliaga-Samanez A, Cobos-Mayo M, Real R, Segura M, Romero D, Fa JE, et al. Worldwide dynamic biogeography of zoonotic and anthroponotic dengue. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:1–30.
57. Messina JP, Brady OJ, Scott TW, Zou C, Pigott DM, Duda KA, et al. Global spread of dengue virus types: Mapping the 70 year history. *Trends Microbiol*. 2014;22:138–46.
58. Butenko AM. [Arbovirus circulation in the Republic of Guinea]. *Med Parazitol*. 1996;Apr-Jun:40–5.
59. Jentes ES, Robinson J, Johnson BW, Conde I, Sakouvougui Y, Iverson J, et al. Acute arboviral infections in Guinea, West Africa, 2006. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;83:388–94.
60. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013;496:504–7.

61. Nsoesie EO, Kraemer MUG, Golding N, Pigott DM, Brady OJ, Moyes CL, et al. Global distribution and environmental suitability for chikungunya virus, 1952 to 2015. *Eurosurveillance*. 2016;21:1–12.
62. Standley CJ, Carlin EP, Sorrell EM, Barry AM, Bile E, Diakite AS, et al. Assessing health systems in Guinea for prevention and control of priority zoonotic diseases: A One Health approach. *One Heal*. 2019;7 April:100093.
63. WHO-Africa. Chikungunya: Disease Outbreak. 2020. <https://www.afro.who.int/health-topics/chikungunya#>. Accessed 30 Dec 2020.
64. Buchwald AG, Hayden MH, Dadzie SK, Paull SH, Carlton EJ. Aedes-borne disease outbreaks in West Africa: A call for enhanced surveillance. *Acta Trop*. 2020;209 May.
65. Hackett CJ. Extent and nature of the yaws problem in Africa. *Bull World Health Organ*. 1953;8:129–82.
66. Asiedu K, Fitzpatrick C, Jannin J. Eradication of Yaws: Historical Efforts and Achieving WHO's 2020 Target. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8.
67. Antal GM, Causse G. The control of endemic treponematoses. *Rev Infect Dis*. 1985;7 June:S220–S220.
68. Widy-Wirski R. Surveillance and Control of Resurgent Yaws in the African Region. *Rev Infect Dis*. 1985;7 Suppl 2:S227-32.
69. The Global Health Observatory. Number of suspected cases of yaws reported. World Health Organization. 2020. <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/number-of-suspected-cases-of-yaws-reported>. Accessed 26 Dec 2020.
70. Mubemba B, Chanove E, Mätz-Rensing K, Gogarten JF, Dux A, Merkel K, et al. Yaws Disease Caused by *Treponema pallidum* subspecies *pertenue* in Wild Chimpanzee, Guinea, 2019. *Emerg Infect Dis*. 2020;26:1283–6.
71. US Centers for Disease Control and Prevention. Mycetoma. *cdc.gov*. 2020. <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/mycetoma/index.html>. Accessed 30 Dec 2020.
72. Adoubryn KD, Koffi KE, Doukoure B, Troh E, Kouadio-Yapo CG, Ouhon J, et al. Mycétomes des Ouest-Africains non résidents en Côte d'Ivoire. *J Mycol Med*. 2010;20:26–30.
73. Desoubeaux G, Millon A, Freychet B, de Muret A, Garcia-Hermoso D, Bailly E, et al. Eumycetoma of the foot caused by *Exophiala jeanselmei* in a guinean woman. *J Mycol Med*. 2013;23:168–75.

74. The Global Health Observatory. *Taenia solium*. 2021. <https://apps.who.int/gho/data/node.main.NTDT SOL3?lang=en>. Accessed 17 Dec 2021.
75. World Health Organization. Eradication of Dracunculiasis: A handbook for international certification teams. 2015.
76. World Health Organization. Certification status of dracunculiasis eradication. 2020. https://apps.who.int/dracunculiasis/dradata/html/report_Countries_GIN.html. Accessed 1 Jan 2021.
77. World Health Organization. WHO Expert Consultation on Rabies: Third report. Geneva, Switzerland; 2018.
78. Youla AS, Traore FA, Sako FB, Feda RM, Emeric MA. [Canine and human rabies in Conakry: epidemiology and preventive aspects]. *Bull la Soc Pathol Exot*. 2014;107:18–21.
79. Elven J, Dahal P, Ashley EA, Thomas N V., Shrestha P, Stepniewska K, et al. Non-malarial febrile illness: a systematic review of published aetiological studies and case reports from Africa, 1980–2015. *BMC Med*. 2020;18:1–17.
80. Pandey A, Atkins KE, Bucheton B, Camara M, Aksoy S, Galvani AP, et al. Evaluating long-term effectiveness of sleeping sickness control measures in Guinea. *Parasites and Vectors*. 2015;8:1–10.
81. Courtin F, Camara M, Rayaisse JB, Kagbadouno M, Dama E, Camara O, et al. Reducing human-tsetse contact significantly enhances the efficacy of sleeping sickness active screening campaigns: A promising result in the context of elimination. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9:1–12.
82. Deeks ED. Fexinidazole: First Global Approval. *Drugs*. 2019;79:215–20.
83. Das AM, Chitnis N, Burri C, Paris DH, Patel S, Spencer SEF, et al. Modelling the impact of fexinidazole use on human African trypanosomiasis (HAT) transmission in the Democratic Republic of the Congo. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:1–13.
84. Vanhecke C, Guevart E, Ezzedine K, Receveur MC, Jamonneau V, Bucheton B, et al. La trypanosomose humaine africaine en faciès épidémiologique de mangrove. Présentation, déterminants et prise en charge dans le contexte de la Guinée (2005 à 2007). *Pathol Biol*. 2010;58:110–6.
85. Sakho F, Badila CF, Dembele B, Diaby A, Camara AK, Lamah L, et al. Implementation of mass drug administration for neglected tropical diseases in Guinea during the COVID-19 pandemic. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:1–13.

86. McKay S, Shu'Aibu J, Cisse A, Knight A, Abdullahi F, Ibrahim A, et al. Safely resuming neglected tropical disease control activities during COVID-19: Perspectives from Nigeria and Guinea. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:1–14.
87. The New Humanitarian. Black market medicines re-emerge. 2009. <https://www.thenewhumanitarian.org/report/84644/guinea-black-market-medicines-re-emerge>. Accessed 22 Dec 2020.
88. The Institute of Research Against Counterfeit Medicines. Guinea: pharmacists syndicate calls for madina crack-down, the country's largest fake medicine market. 2020. <http://www.iracm.com/en/2016/12/guinea-pharmacists-syndicate-calls-madina-crack-countrys-largest-fake-medicine-market/#>. Accessed 22 Dec 2020.
89. Guineematin.com. Fake drugs in Guinea: the revelations of the Minister of Health in Parliament. *guineematin.com*. 2020. <https://guineematin.com/2020/11/11/faux-medicaments-en-guinee-les-revelations-du-ministre-de-la-sante-au-parlement/>. Accessed 22 Dec 2020.
90. Gustavsen K, Sodahlon Y, Bush S. Cross-border collaboration for neglected tropical disease efforts-Lessons learned from onchocerciasis control and elimination in the Mano River Union (West Africa). *Global Health*. 2016;12:1–5.
91. Balde M, Dieng B, Inapogui A, Barry A, Bah H, Konde K. [Problems with envenomations in Guinea]. *Bull Soc Pathol Exot*. 2002;95:157–9.
92. Burchard GD, Kubica T, Tischendorf FW, Kruppa T, Brattig NW. Analysis of renal function in onchocerciasis patients before and after therapy. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;60:980–6.
93. Kruppa TF, Burchard G. Similar blackfly attraction by onchocerciasis patients and individuals putatively immune to *Onchocerca volvulus*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1999;93:365–7.
94. World Health Organization. Status of endemicity of onchocerciasis: Data by country. WHO. 2021. <https://apps.who.int/gho/data/node.main.NTDONCHSTATUS?lang=en>. Accessed 12 Feb 2022.
95. Cochereau I, Goldschmidt P, Afghani T, Delval L, Bourcier T, Robert P. Efficacy and safety of short duration azithromycin eye drops versus azithromycin single oral dose for the treatment of trachoma in children: a randomised, controlled, double- masked clinical trial. *Br J Ophthalmology*. 2007;91:667–72.

96. Flueckiger RM, Giorgi E, Cano J, Abdala M, Amiel ON, Baayenda G, et al. Understanding the spatial distribution of trichiasis and its association with trachomatous inflammation-follicular. *BMC Infect Dis.* 2019;19:1–16.
97. Montresor A, Urbani C, Camara B, Bha AB, Albonico M, Savioli L. [Preliminary survey of a school health program implementation in Guinea]. *Med Trop.* 1997;57:294–8.
98. Hodges M, Koroma MM, Baldé MS, Turay H, Fofanah I, Divall MJ, et al. Current status of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in Beyla and Macenta Prefectures, Forest Guinea. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2011;105:672–4.
99. Bosman A, Giorgi F De, Diallo IK, Pizzi L, Bartoloni P, Cancrini G. Prevalence and intensity of infection with intestinal parasites in areas of the Futa Djallon, Republic of Guinea. *Parassitologia.* 1991;33:203–8.
100. Camara M, Kaa D, KagbaDouno M, Sanon J, Ouendeno F, Solano P. [Human African trypanosomiasis in the mangrove forest in Guinea: epidemiological and clinical features in two adjacent outbreak areas]. *Med Trop.* 2005;65:155–61.
101. Ilboudo H, Jamonneau V, Camara M, Camara O, Dama E, Leno M, et al. Diversity of response to *Trypanosoma brucei* gambiense infections in the Forecariah mangrove focus (Guinea): Perspectives for a better control of sleeping sickness. *Microbes Infect.* 2011;13:943–52.
102. Omansen TF, Erbowor-Becksen A, Yotsu R, Van Der Werf TS, Tiendrebeogo A, Grout L, et al. Global epidemiology of Buruli ulcer, 2010-2017, and analysis of 2014 WHO programmatic targets. *Emerg Infect Dis.* 2019;25:2183–90.
103. Balde M, Camara A, Bah H, Barry A, Camara S. [Impact of snakebites in rural environment: community survey in the rural development community (DRC) of Frilguiagbe, Republic of Guinea]. *Bull Soc Pathol Exot.* 2005;98:283–4.
104. Balde MC, Camara A, Koivougui A, Camara S. [Envenomations of the Kindia prefecture treated in the Institut Pasteur of Guinea for one year (2003-2004)]. *Bull Soc Pathol Exot.* 2005;98:285–6.
105. Stoler J, al Dashti R, Anto F, Fobil JN, Awandare GA. Deconstructing “malaria”: West Africa as the next front for dengue fever surveillance and control. *Acta Trop.* 2014;134:58–65.
106. Powers AM, Logue CH. Changing patterns of chikungunya virus: Re-emergence of a zoonotic arbovirus. *J Gen Virol.* 2007;88:2363–77.

107. The Global Health Observatory. Taenia solium Taeniasis/Cysticercosis. 2018. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/topic-details/GHO/taenia-solium-taeniasis-cysticercosis>. Accessed 30 Dec 2020.
108. The Global Health Observatory. Leishmaniasis. 2020. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/topic-details/GHO/leishmaniasis>. Accessed 30 Dec 2020.
109. Pampiglione S, Marton K. [Cutaneous leishmaniasis in the Republic of Guinea]. Bull Soc Pathol Exot Fil. 1977;70:479–84.
110. Karimkhani C, Colombara D V., Drucker AM, Norton SA, Hay R, Engelman D, et al. The global burden of scabies: a cross-sectional analysis from the Global Burden of Disease Study 2015. Lancet Infect Dis. 2017;17:1247–54.

2. Les parasites intestinaux, un problème de santé publique

Selon les données de l'OMS, plus de 1.5 milliard de personnes dans le monde sont infectées par des parasites intestinaux et 450 millions sont gravement malades avec un taux de mortalité d'environ 150 000 cas par an (WHO, 2012). La promiscuité et le manque d'hygiène associés à la pauvreté favorisent leur transmission et expansion. Dans certaines régions du monde, et en particulier dans les zones subtropicales et tropicales, les infections parasitaires intestinales sont endémiques et restent l'une des principales causes de morbidité et de mortalité, ce qui justifie la mobilisation de ressources et d'actions visant à les contrôler et à les éradiquer (Gyorkos et al., 1996).

Les pays en développement sont les plus touchés par les infections parasitaires intestinales, en particulier dans des régions telles que l'Afrique subsaharienne, l'Amérique du Sud, l'Amérique Centrale, la Chine et l'Asie de l'Est (Molyneux et al., 2017). Cette situation constitue clairement un obstacle au développement socio-économique de ces pays (Eyayu et al., 2021). Les infections parasitaires intestinales sont causées par des helminthes et des protozoaires. Les helminthes transmis par le sol (géohelminthes) comprennent, entre autres, *Ascaris lumbricoides*, responsable de l'ascaridiose, *Ancylostoma duodenale*, responsable de l'ankylostomiase, et *Trichuris trichiura*, responsable de la trichocéphalose (Eyayu et al., 2021). Parmi les helminthes transmis par l'eau, *Schistosoma mansoni*, responsable de la schistosomiase, est l'une des plus importantes douves du sang en Afrique (Nithiuthai et al., 2004 ; Aula et al., 2021). Les principaux modes de contamination par ces parasites sont les œufs présents dans les selles des personnes infectées ou les larves. Les vers adultes, qui se trouvent dans l'intestin d'une personne infectée, peuvent produire des milliers d'œufs chaque jour, contaminant ainsi les environnements dépourvus d'assainissement adéquat (Umbrello et al., 2021).

Parmi les protozoaires intestinaux les plus prévalents figurent *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Blastocystis* sp. et *Cryptosporidium* spp (Hajissa et al., 2022). Ce dernier peut, dans certains cas, être à l'origine d'infections gastro-intestinales graves entraînant une morbidité et une mortalité élevées, en particulier chez les enfants et les patients immunodéprimés (Certad et al., 2017 ; Levine et al., 2020).

En Afrique, il est difficile de disposer de données épidémiologiques fiables concernant les infections parasitaires intestinales en raison notamment de la sous-déclaration des cas. Cependant, certaines études décrivent une prévalence élevée des parasitoses intestinales,

même si cette prévalence est variable d'une région à l'autre (Adoubryn et al., 2012 ; Erismann et al., 2016). Une enquête nationale réalisée en Guinée en 1995 a fait état d'une prévalence de 70% de la géo-helminthiase chez les enfants d'âge scolaire dans les quatre régions naturelles du pays : Basse Guinée, Moyenne Guinée, Haute Guinée et Guinée Forestière (Gyorkos et al., 1996). Cependant, à notre connaissance, aucune étude nationale n'a été réalisée pour estimer la prévalence des parasitoses intestinales ou même pour évaluer leur impact sur la santé de la population depuis cette date.

Concernant particulièrement *Cryptosporidium* et *Blastocystis*, malgré leur impact potentiel majeur en santé publique, les deux protozoaires entériques restent négligés par les autorités sanitaires. En outre, peu ou pas de traitements sont efficaces contre ces parasitoses (Robertson et al., 2020 ; Batista et al., 2017). En Guinée, les efforts du Programme National de Lutte contre les Maladies Tropicales Négligées (MTN), rattaché à la Direction Nationale des Grandes Endémies et de la Lutte contre la Maladie sont essentiellement orientés vers la lutte contre les maladies à chimioprévention (onchocercose, filariose lymphatique, trachome, schistosomiase et géohelminthiase) et les maladies dites à prise en charge de cas (lèpre, THA et ulcère de Buruli) (Plan directeur des maladies tropicales négligées en Guinée 2019-2023). Ainsi, à ce jour, les protozoaires intestinaux ne représentent pas une priorité de ce programme et d'ailleurs, à notre connaissance, aucune donnée épidémiologique n'est disponible en Guinée concernant la prévalence de *Blastocystis* dans la population et peu d'enquêtes sont disponibles concernant *Cryptosporidium* alors que ce pays est considéré à haut risque d'infection par ces parasites du fait des conditions sanitaires rencontrées, en particulier dans les zones rurales.

3. Quelques généralités concernant *Blastocystis* sp.

Morphologie et cycle biologique

Blastocystis sp. est un protozoaire anaérobie entérique ayant la particularité d'être polymorphique que ce soit dans les selles ou en culture puisque 4 formes de ce microorganisme ont été décrites en l'occurrence les formes vacuolaires, kystiques, amiboïdes et granulaires (Tan, 2004 ; Tan, 2008). Cependant, seules les formes vacuolaires et kystiques représenteraient les stades clés du cycle du parasite.

En effet, la forme vacuolaire dont la taille moyenne est comprise entre 5 et 25 μm selon les isolats est la forme infectieuse et potentiellement virulente du parasite dans le tube digestif de l'hôte. C'est aussi une forme fréquente dans les selles et la seule cultivée axéniquement *in vitro*. La quasi-totalité de son volume est occupé par une vacuole centrale qui aurait un rôle de stockage et qui repousse en périphérie le cytoplasme et les organites cellulaires tels que les mitochondries et le noyau. Cela rend son identification assez aisée par observation microscopique des selles pour le diagnostic. La seconde forme majeure est la forme kystique de petite taille (2 à 5 μm) qui est la forme de résistance et de transmission de ce protozoaire et quasi-exclusivement identifiée dans les selles. Ceci a été confirmé par le fait que des kystes obtenus à partir de selles humaines ou animales étaient capables de coloniser différents hôtes comme des rongeurs (Hussein et al., 2008). De plus, cette forme qui possède une paroi kystique épaisse est capable de résister aux méthodes classiques de désinfection de l'eau et peut survivre pendant de longues semaines dans l'environnement (Moe et al., 1996). Par contre, du fait de sa petite taille, elle est presque inutile pour un diagnostic microscopique car elle peut être confondue avec des débris fécaux.

En prenant en compte ces données, plusieurs auteurs ont suggéré un cycle biologique de *Blastocystis* sp. qui reste encore hypothétique car aucun modèle animal reproductible ne permet de l'infirmier ou de le confirmer à l'heure actuelle (Tan, 2004 ; Tan, 2008) (Figure 2).

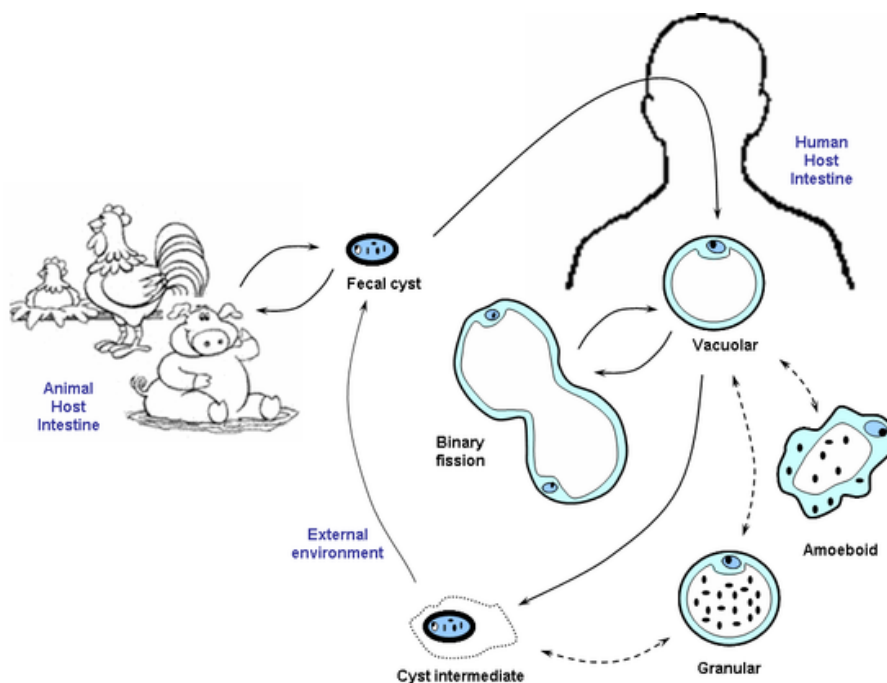


Figure 2 : Cycle biologique hypothétique de *Blastocystis* sp. mettant en avant le rôle clé des formes vacuolaire et kystique (Tan, 2004)

Brièvement, la forme kystique va être ingérée par un hôte puis va transiter dans le tube digestif jusqu'à l'intestin. Cette forme va alors se désenkyster et donner naissance à la forme vacuolaire qui pourra se multiplier par fission binaire et avoir un éventuel effet délétère sur l'épithélium intestinal de l'hôte. Il a de plus été suggéré que dans l'intestin, certaines formes vacuolaires pouvaient se transformer en formes granulaires ou amiboïdes sans que l'on puisse, à ce jour, clarifier le rôle éventuel de ces deux autres formes du protozoaire. En fin de cycle, certaines formes vacuolaires seront capables de s'enkyster lors de la traversée du côlon avant excrétion dans les selles. Ces kystes se retrouveront alors dans l'environnement et pourront contaminer le même hôte ou un nouvel hôte. Ainsi, comme pour tous les autres protozoaires entériques tels que *Giardia*, *Cryptosporidium* ou *Entamoeba*, son principal mode de transmission est la voie féco-orale principalement via la consommation d'eau contaminée par des kystes (Tan, 2008 ; Eroglu et Koltas, 2010).

Taxonomie et diversité génétique

Dès sa découverte au début du XXème siècle, la taxonomie de *Blastocystis* s'est avérée très incertaine puisqu'après son intégration initiale dans le règne des champignons, il a fallu attendre les années 1960, sur la base de données morphologiques (Ziert et al., 1967), puis les années 1990, sur la base de données moléculaires (Silberman et al., 1996), pour d'abord le classer au sein des protozoaires puis lui trouver une place dans la lignée des eucaryotes.

A travers une analyse phylogénétique basée sur la comparaison des séquences du gène de l'ARN ribosomique (ARNr) 18S, *Blastocystis* émerge au sein d'un ensemble très hétérogène d'organismes appelé les Straménopiles incluant entre autres les oomycètes, les algues brunes ou les diatomées. Il est aussi intéressant de signaler que *Blastocystis* reste à ce jour le seul Straménopile connu pouvant infecter l'homme en lien très probablement avec une évolution récente vers le parasitisme. Ce groupe des Straménopiles montre en outre une fantastique diversité morphologique et génétique avec l'identification de deux groupes majeurs qui sont les Bigyra, groupe n'incluant que des organismes hétérotrophes et auquel appartient *Blastocystis* et les Gyrista qui englobent, entre autres, des organismes photosynthétiques (Thakur et al., 2019 ; Jirsova et Wideman, 2024). Plus largement, les Straménopiles forment

un groupe monophylétique appelé SAR avec les Alveolata et les Rhizaria (Figure 3) (Al Jewari et Baldauf, 2023 ; Jirsova et Wideman, 2024).

Il s'avère que la taxonomie au sein même du genre *Blastocystis* est elle aussi restée très discutée jusqu'au début des années 2000. Cette incertitude était liée au fait qu'aucune différence morphologique significative ne pouvait être réellement mise en évidence entre isolats provenant d'hôtes très variés (Stenzel et Boreham, 1996 ; Tan, 2004 ; Tan, 2008). En effet, en plus de l'Homme, *Blastocystis* est aussi capable de coloniser une très large gamme d'animaux allant des mammifères aux oiseaux en passant par les insectes, les reptiles, les poissons ou bien encore les mollusques (Gantois et al., 2020 ; Ma et al., 2020 ; Hublin et al., 2021 ; Rauff-Adetotun et al., 2021 ; Ryckman et al., 2024). Par commodité, des espèces de *Blastocystis* ont dans un premier temps été proposées selon les hôtes chez lesquels elles avaient été retrouvées : *Blastocystis hominis* chez l'homme ou *Blastocystis ratti* chez le rat par exemple (Stenzel et Boreham, 1996 ; Tan, 2004 ; Tan, 2008). Pourtant, dès l'obtention des premières données moléculaires en particulier par Noël et al. (2005) publiant la première phylogénie moléculaire basée sur la comparaison des séquences du gène de l'ARNr 18S d'un nombre conséquent d'isolats, une large diversité génétique a été observée au sein du genre *Blastocystis* couplée à une faible spécificité d'hôte puisque certains isolats pouvaient coloniser plusieurs groupes d'animaux. L'hypothèse d'une potentielle transmission zoonotique de *Blastocystis* a alors été avancée. Dans l'étude de Noël et al. (2005), les auteurs ont identifié 9 lignées d'isolats soutenues phylogénétiquement. Du fait des distances évolutives observées entre ces lignées, ces dernières pouvaient correspondre à des espèces. Cependant, pour éviter toute confusion avec la taxonomie initiale, le terme sous-type (ST) a été proposé pour chacune de ces lignées. Ce terme a été conservé dans la classification de Stensvold et al. (2007a) qui, de plus, proposait d'assigner à chaque isolat sous-typé le nom *Blastocystis* sp. suivi de son ST. L'ancienne taxonomie était donc supprimée et en particulier l'utilisation du terme *Blastocystis hominis* qui ne faisait plus sens.

Jusqu'à récemment, de nombreuses études épidémiologiques menées chez l'homme comme chez l'animal ont permis l'identification de STs additionnels en particulier chez les herbivores. Ainsi, à ce jour, pas moins de 46 STs ont été caractérisés chez les seuls mammifères et les oiseaux (Maloney et al., 2023 ; Santin et al., 2024 ; Koehler et al., 2024) et nommés ST1-ST46. Cependant, 4 d'entre eux (ST18-ST20 et ST22) n'ont pas été validés car correspondant

à des artéfacts expérimentaux (chimères post-PCR) (Stensvold et al., 2020). D'autres STs ont aussi été caractérisés chez les reptiles, les insectes et les poissons et appelés NMASTs pour Non Mammalian and Avian STs (Cian et al., 2017 ; Gantois et al., 2020) augmentant ainsi la diversité génétique de ce genre.

Méthodes de détection

La méthode classique de recherche de *Blastocystis* sp. est l'observation microscopique d'un frottis de selle fraîche diluée dans du sérum physiologique à un grossissement de 400x (Tan, 2004 ; Tan, 2008). Un échantillon de selle est alors considéré positif si au moins 5 parasites sont observés par champs. Cependant, cette observation reste délicate pour différentes raisons. D'abord, comme indiqué précédemment, les formes kystiques du parasite sont facilement confondues avec des débris fécaux et de plus, le nombre de formes vacuolaires excrétées peut être très variable d'une journée à l'autre chez un patient colonisé (Vennila et al., 1999 ; van Gool et al., 2003). De ce fait, il est recommandé d'analyser plusieurs échantillons de selles à quelques jours d'intervalle ce qui rend cette identification incertaine et chronophage. En outre, cette observation nécessite une expérience certaine du manipulateur dans l'identification des protozoaires intestinaux (Bart et al., 2013). Pour augmenter quelque peu la sensibilité de cette méthode microscopique, une concentration préalable des selles en présence de formol/éther peut être envisagée avec l'inconvénient majeur que cette méthode entraîne la destruction des formes vacuolaires par ce mélange (Stensvold et al., 2007b ; Koltas et al., 2014). Des colorations comme celle au trichrome peuvent aussi être utilisées avant observation des frottis de selle (Stensvold et al., 2007). Une autre méthode de détection non moléculaire est la mise en culture d'un échantillon de selles avant observation microscopique (Stensvold et al., 2007b). Cette culture se fait généralement en milieu de Jones pendant 72 heures. Même si cette méthode est plus sensible que la simple observation microscopique, elle présente cependant plusieurs limites à son utilisation. La première est qu'elle ne permet pas la croissance de tous les isolats de *Blastocystis* sp. (Parkar et al., 2007 ; Tan, 2008). D'autre part, si plusieurs isolats de STs différents sont présents dans un même échantillon (infection mixte), la croissance d'un ST peut être favorisée par rapport aux autres (Parkar et al., 2007 ; Roberts et al., 2013). Ainsi, cette méthode peut fausser plus ou moins largement la détermination des STs présents dans un échantillon et donc les

données épidémiologiques d'une enquête. D'autre part, cette approche est très chronophage et ne peut pas être utilisée dans le cadre d'études épidémiologiques menées à grande échelle.

Dès les années 90, les premières approches moléculaires ont été développées telles que l'amplification aléatoire de l'ADN polymorphe ou RAPD et le polymorphisme de longueur des fragments de restriction ou RFLP, toutes deux ciblant le gène de l'ADNr 18S (Yoshikawa et al., 1998, 2004 ; Böhm-Gloning et al., 1997 ; Tan et al., 2006). A ce jour, ces méthodes ne sont plus utilisées et ne seront donc pas détaillées dans ce manuscrit. Par la suite, plusieurs tests en PCR conventionnelle ont été mis au point permettant à la fois l'identification mais aussi le sous-typage des isolats correspondants par séquençage SANGER du produit de PCR. Ces PCRs ont toutes en commun de cibler le gène de l'ADNr 18S à l'aide d'amorces spécifiques du genre *Blastocystis* (Scicluna et al., 2006 ; Stensvold et al., 2006 ; Parkar et al., 2010 ; Santin et al., 2011). Cependant, chacune de ces PCRs amplifie un domaine différent du gène cible.

Par la suite, des méthodes plus sensibles par PCR en temps réel (qPCR) ont été développées ciblant elles aussi le gène codant l'ADNr 18S (Poirier et al., 2011 ; Stensvold et al., 2012). Le premier de ces tests (Poirier et al., 2011) est utilisé en routine dans mon équipe d'accueil et est basé sur une technologie SYBR green. Le produit amplifié est d'environ 300 pb avec des petites variations de taille selon le ST de l'isolat. Le second test qui reste très peu utilisé (Stensvold et al., 2012) est basé, quant à lui, sur la technologie TaqMan avec une sonde contrôle interne qui empêche tout séquençage direct du produit d'amplification. La PCR en général et la qPCR en particulier se sont montrées à travers des tests comparatifs beaucoup plus sensibles que les approches de détection non moléculaires (Poirier et al., 2011 ; Roberts et al., 2011 ; Osman et al., 2016).

Ces méthodes moléculaires permettent par séquençage des produits de PCR le sous-typage des isolats de *Blastocystis* sp. Pour cela, la séquence obtenue est comparée par BLAST aux séquences homologues de STs connus disponibles dans la base de données de la GenBank. Si le pourcentage d'identité obtenu est supérieur ou égal à 95% (valeur fixée d'après le polymorphisme de séquences observé au sein de certains STs) avec un ST connu alors l'isolat analysé peut être assigné à ce ST (Stensvold and Clark, 2016). Si cette valeur est inférieure à 95% alors l'hypothèse d'un nouveau ST est avancée. Cependant, pour valider un nouveau ST, il est nécessaire d'obtenir la séquence complète du gène de l'ADNr 18S et de l'intégrer dans une analyse phylogénétique prenant en compte tous les STs connus comme réalisé pour les derniers STs caractérisés (Maloney et al., 2023 ; Santin et al., 2024 ; Koehler et al., 2024).

Dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques en particulier dans des pays avec une forte prévalence du parasite, il s'avère que de nombreux électrophorogrammes de séquences des produits de PCR soient difficilement lisibles en lien avec la présence de doubles traces caractéristiques d'infections mixtes (présence d'au moins deux STs différents de *Blastocystis* sp. dans le même échantillon). Dans ces cas précis, les échantillons sont considérés comme positifs généralement sans détermination des STs présents. En effet, pour déterminer ces STs, il est nécessaire de cloner ces produits de PCR et de séquencer plusieurs clones (Meloni et al., 2012). Plus récemment, des approches de séquençage de nouvelle génération (NGS) des amplicons permettent aussi d'identifier ces infections mixtes et de caractériser les STs présents (Higuera et al., 2021 ; Baek et al., 2022 ; Koehler et al., 2024). Cependant, ces méthodes ont un coût peu envisageable pour des enquêtes à grande échelle.

Prévalence dans la population humaine

Au cours des dernières années, un intérêt croissant s'est porté sur la détermination de l'impact de *Blastocystis* sp. dans la population humaine et de ce fait, un nombre croissant et important d'enquêtes épidémiologiques ont été publiées à travers le monde. Il serait impossible de toutes les citer dans ce manuscrit et plusieurs revues ou articles résument en grande partie les données de prévalence obtenues par exemple en Asie (Ning et al., 2020 ; Rauff-Adedotun et al., 2021 ; Nemati et al., 2021 ; Kumarasamy et al., 2023), en Océanie (Nemati et al., 2021), en Amérique Latine (Fusaro et al., 2024) ou en Afrique (Khaled et al., 2020 ; Naguib et al., 2023). Les prévalences observées sont très variables d'un pays à l'autre d'un même continent et même souvent variables d'une région à l'autre au sein d'un même pays. Par exemple en Chine, la prévalence de *Blastocystis* sp. est comprise entre 2 et 45% (Ning et al., 2020) et entre 3,4 et 27,3% en Malaisie (Kumarasamy et al., 2023). Ces différences peuvent s'expliquer par une multitude de facteurs comme la méthode d'identification utilisée, les conditions sanitaires rencontrées, la qualité de l'eau de consommation, les conditions climatiques, la composition de la cohorte étudiée en termes de statut immunitaire ou d'âge ou bien encore un contact éventuel avec des animaux. En Europe, la prévalence moyenne du parasite déterminée par des méthodes moléculaires est de l'ordre de 20% comme peuvent en témoigner les enquêtes réalisées en France (El Safadi et al., 2016), en Italie (Beghini et al., 2017), à Chypre (Seyer et al., 2017), aux Pays-Bas (Bart et al., 2013) ou bien encore en République Tchèque (Lhotska et al., 2020).

Si on se focalise sur le continent Africain faisant l'objet de ma thèse, le nombre d'études publiées reste curieusement assez limité et surtout focalisé sur l'Afrique du Nord et l'Afrique de l'Ouest. Une revue de ces enquêtes a été récemment présentée dans une large étude épidémiologique menée par mon équipe d'accueil au Sénégal (Khaled et al., 2020) (Table 1). A des fins de comparaison, seules les enquêtes utilisant des méthodes de détection moléculaire de *Blastocystis* sp. ont été listées.

African Region/Countries	Prevalence	Subtyped Isolates	Subtyping Method	<i>Blastocystis</i> sp. STs									Mixed Infection
				ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7	ST10	ST14	
North Africa													
Tunisia	NA ^a	61	Sequencing	18	10	31	1	0	0	1	0	0	0
Libya	28.0%	38	Sequencing	19	3	15	0	0	0	1	0	0	0
Libya	NA ^a	48	Sequencing	26	13	9	0	0	0	0	0	0	0
Egypt	NA ^a	36	PCR-STs ^b	6	0	30	0	0	0	0	0	0	0
Egypt	NA ^a	110	PCR-STs ^b	15	0	49	0	0	33	13	0	0	0
Egypt	NA ^a	33	Sequencing	0	0	33	0	0	0	0	0	0	0
Egypt	NA ^a	21	Sequencing	4	4	13	0	0	0	0	0	0	0
Egypt	NA ^a	44	PCR-STs ^b	8	0	24	0	0	8	4	0	0	0
Total		391		96	30	204	1	0	41	19	0	0	0
West Africa													
Nigeria	84.0%	127	Sequencing	51	42	33	0	0	0	1	0	0	0
Nigeria	49.0%	22	Sequencing	10	0	9	3	0	0	0	0	0	1
Côte d'Ivoire	58.2%	64	Sequencing	32	14	18	0	0	0	0	0	0	0
Côte d'Ivoire	70.0%	0	NA ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liberia	70.0%	25	Sequencing	7	7	8	3	0	0	0	0	0	5
Senegal	80.4%	453	Sequencing	113	226	107	0	0	0	3	2	2	135
Senegal	100%	103	Sequencing	29	21	51	2	0	0	0	0	0	0
Mali	49.7%	0	NA ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		794		242	310	226	8	0	0	4	2	2	141
Central Africa													
Angola	25.6%	75	Sequencing	23	23	27	0	1	0	1	0	0	0
Cameroon	88.2%	65	Sequencing	23	9	33	0	0	0	0	0	0	0
Total		140		46	32	60	0	1	0	1	0	0	0
East Africa													
Tanzania	81.8%	34	Metagenomics	11	13	10	0	0	0	0	0	0	0
Tanzania	55.6%	15	Metagenomics	1	12	2	0	0	0	0	0	0	0
Tanzania	60.9%	92	Sequencing	36	28	27	0	0	0	1	0	0	0
Tanzania	NA ^a	6	Sequencing	1	3	2	0	0	0	0	0	0	0
Total		147		19	56	41	0	0	0	1	0	0	0
Southern Africa													
Madagascar	64.5%	158	Sequencing	80	36	42	0	0	0	0	0	0	13
Total		158		80	36	42	0	0	0	0	0	0	13
Grand total		1630		513	464	573	9	1	41	25	2	2	154

^a NA, not applicable. ^b STs, subtype-specific sequence-tagged site.

Table 1 : Prévalence et distribution des STs de *Blastocystis* sp. dans les pays africains (Khaled et al., 2020).

A ces enquêtes peuvent être rajoutées celles menées plus récemment au Maroc (51,4% ; Boutahar et al., 2024) ou en Egypte (72,4% ; Naguib et al., 2023). En analysant toutes ces données, on note que ces valeurs de prévalence dépassent très souvent les 50% dans les populations considérées. Cette fréquence peut même atteindre les 100% au Sénégal dans le village de Ndiawdoune près de Saint-Louis (Khaled et al., 2020) ainsi que dans une cohorte d'une centaine d'écoliers vivant dans le district de Podor au nord du pays (El Safadi et al., 2014). De telles prévalences observées en particulier en Afrique et plus spécialement dans des régions rurales démontrent une transmission active et généralisée du parasite en raison de conditions sanitaires et d'hygiène précaires au sein de la population et de l'exposition à diverses sources environnementales contaminées, en faisant de véritables zones d'endémie.

Ainsi, *Blastocystis* sp. est le protozoaire entérique le plus fréquemment identifié dans les selles humaines loin devant *Giardia*, *Cryptosporidium* ou encore *Entamoeba* (Boorum et al., 2008 ; Osman et al., 2016).

Distribution des STs dans la population humaine

L'analyse de la distribution des différents STs de *Blastocystis* sp. dans les populations de très nombreux pays a fait l'objet d'un grand nombre de publications qui ont pu être en partie synthétisées dans plusieurs revues ou articles (Tan, 2008 ; Clark et al., 2013 ; Stensvold et Clark, 2016 ; Jimenez et al., 2019 ; Khaled et al., 2020 ; Ning et al., 2020 ; Nematy et al., 2021 ; Popruk et al., 2021 ; Rauff-Adedotun et al., 2021 ; Jimenez et al., 2023 ; Kumarasami et al., 2023 ; Rudzinska et al., 2023 ; Fusaro et al., 2024). La tendance globale est celle d'une très large prédominance des isolats appartenant aux ST1 à ST4. Ainsi Alfellani et al. (2013) ont montré que plus de 90% des isolats sous-typés à travers le monde au moment de leur analyse appartenaient aux ST1 à ST4 (Figure 1) et cette tendance s'est totalement confirmée par la suite. La prédominance de ces STs témoigne d'une large transmission inter-humaine et ces 4 STs sont donc considérés comme anthroponotiques. Au sein de ces 4 STs, la fréquence du ST3 est supérieure à celles des autres STs quelle que soit la zone géographique étudiée. C'est aussi le cas par exemple en Afrique (Khaled et al., 2020) (Figure 1).

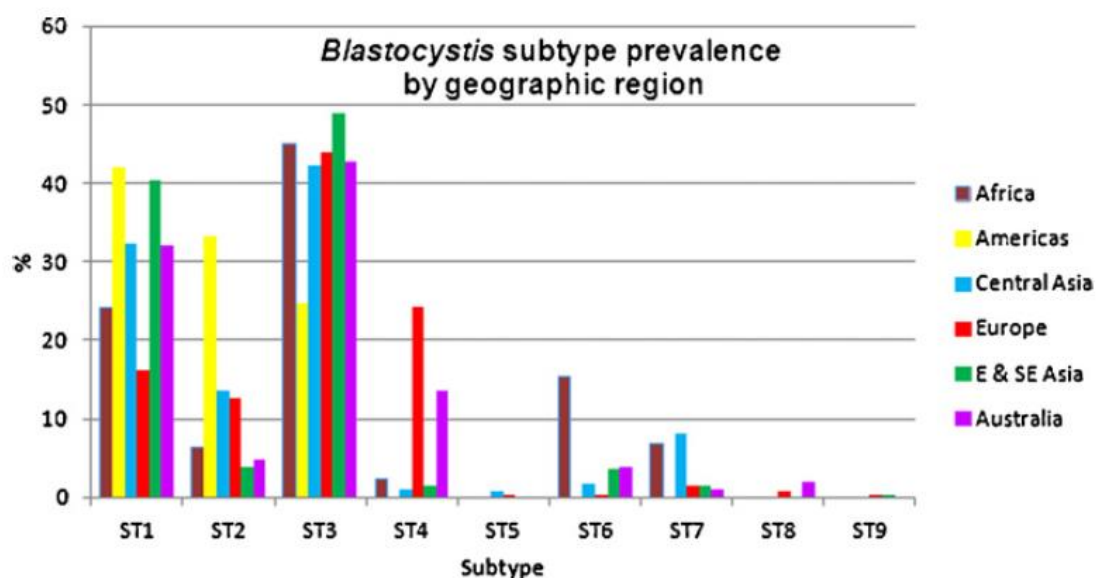


Figure 1: Synthèse de la distribution des STs de *Blastocystis* sp. dans la population humaine par région géographique (Alfellani et al., 2013). Ce graphe n'incluait pas les autres STs

identifiés plus récemment dans différents pays.

Si on se focalise sur ce continent, on note cependant des disparités puisque par exemple, le ST1 est prédominant dans certains pays comme Madagascar, la Tanzanie, le Nigéria ou la Côte d'Ivoire alors que c'est le ST2 au Sénégal. Dans ce dernier pays, on a même noté une différence de ST majoritaire entre études épidémiologiques menées dans deux régions différentes. Comme pour les variations de prévalence du parasite, ces différences dans la fréquence des STs peuvent s'expliquer par les mêmes facteurs et en particulier les sources potentielles de contamination environnementale. Dans le même registre, on note que le ST4 n'est pas uniformément réparti sur le globe puisqu'il est essentiellement identifié en Europe (Alfellani et al., 2013). Des études ultérieures à celle d'Alfellani menées par exemple en Italie (Beghini et al., 2017) ou à Chypre (Sever et al., 2017) ont confirmé cette observation. Le ST4 est par contre extrêmement rare ou inexistant sur les autres continents et en particulier en Afrique. De ce fait, il a été proposé que le ST4 avait émergé récemment dans la population européenne mais l'origine animale probable de cette émergence chez l'Homme reste à ce jour inconnue (Clark et al., 2013).

A côté de ces 4 STs largement majoritaires, 13 autres STs (ST5-ST10, ST12, ST14, ST16, ST23, ST26, ST35 et ST41) ont à ce jour pu être identifiés chez l'homme avec des prévalences extrêmement variables (Alfellani et al, 2013 ; Ramirez et al, 2016 ; Khaled et al, 2020 ; Osario-Pulgarin et al, 2021 ; Jinatham et al, 2021 ; Nguyen et el., 2023 ; Naguib et al, 2024). Comme détaillé ci-dessous, ces STs étant considérés comme des STs animaux, leur présence dans la population humaine s'explique naturellement par une transmission zoonotique.

Fréquence et distribution des STs dans la population animale et potentiel zoonotique

Comme souligné précédemment, *Blastocystis* sp. a été identifié dans une multitude de groupes d'animaux vertébrés ou invertébrés et ces identifications ont fait l'objet d'un nombre extrêmement important de publications issues d'enquêtes menées dans différents pays et prenant compte des animaux sauvages, d'élevage, en captivité ou domestiques. Une dizaine de revues et articles récents peuvent cependant résumer la plupart des données obtenues chez les animaux en termes de prévalence ou de distribution des différents STs présents (Gantois et al., 2020 ; Ma et al., 2020 ; Asghari et al., 2021 ; Hublin et al., 2021 ; Nemati et al., 2021 ; Rauff-Adetotun et al., 2021 ; Shams et al., 2021 ; Barati et al., 2022 ; Sanggari et al.,

2022 ; Shams et al., 2022a et b ; Ghafari-Cherati et al., 2024 ; Naguib et al., 2024 ; Ryckman et al., 2024). Sans rentrer dans les détails, et de manière générale, *Blastocystis* sp. est un protozoaire ubiquiste puisqu'identifié chez tous les groupes d'animaux testés allant des insectes aux primates non-humains. Cependant, sa fréquence est extrêmement variable d'un groupe à l'autre. En effet, elle dépasse souvent les 30 à 50% chez les ruminants, les volailles ou les primates alors qu'elle est beaucoup plus faible, en particulier, chez les animaux de compagnie (chiens et chats) et chez les chevaux. De plus, au sein d'un même groupe d'animaux, les prévalences peuvent largement fluctuer d'un pays à l'autre ou au sein même d'un pays en fonction, par exemple, des conditions et du mode d'élevage ou de paramètres géographiques et climatiques. Une étude récente menée à grande échelle en Egypte (Naguib et al., 2024) incluant des cohortes de différents groupes d'herbivores (moutons, chèvres, chameaux, lapins et chevaux) a aussi mis en évidence une plus forte prévalence de *Blastocystis* sp. chez les ruminants (estomac complexe à 4 compartiments) par rapport aux non-ruminants (estomac simple) suggérant ainsi que les habitudes alimentaires chez les herbivores pouvaient sans doute jouer un rôle significatif dans la colonisation par ce protozoaire. De même, les mollusques bivalves sont aussi généralement fortement colonisés par *Blastocystis* sp. du fait de leur forte capacité de filtration d'une eau potentiellement contaminée par des parasites (Ryckman et al., 2024).

Les données moléculaires obtenues ces dernières années ont permis de déterminer les STs prédominants chez certains groupes d'animaux (Hublin et al., 2021 ; Rauff-Adedotun et al., 2021 ; Sanggari et al., 2022). Brièvement, les ST6 et ST7 sont largement majoritaires chez les oiseaux et sont donc maintenant considérés comme des STs aviaires. Le ST5 est quant à lui prédominant chez les suidae alors que les ST10 et ST14 sont deux STs adaptés en particulier aux bovidae. Plus globalement, une très grande diversité de STs a été récemment mise en évidence chez les Artiodactyles comme confirmé dans l'analyse phylogénétique globale de l'article de Koehler et al. (2024).

Toujours à partir de ces données moléculaires, des groupes à risque pour une transmission zoonotique de *Blastocystis* sp. ont pu être identifiés. Ainsi des variants génétiques identiques de ST6 ont été caractérisés à la fois chez des poulets de chair et chez les membres du personnel des abattoirs de ces volailles (Greige et al. 2018). Il en a été de même pour des isolats de ST5 chez des porcs destinés à la consommation et chez le staff d'élevages intensifs en contact avec ces animaux (Wang et al. 2014) ou pour des isolats de ST8

chez des primates en captivité et chez leurs gardiens dans des zoos (Stensvold et al. 2009). Cette transmission zoonotique de ces STs est naturellement liée à un contact répété et direct entre les animaux et leurs manipulateurs et elle est loin d'être négligeable. En effet, les STs aviaires (ST6 et ST7), fréquemment rencontrés dans des enquêtes épidémiologiques menées chez des volailles de fermes ou vendues sur des marchés (Greige et al., 2018 ; Naguib et al., 2022) pourraient représenter jusqu'à 10% des isolats identifiés chez l'Homme en dehors de l'Europe (Stenvold et Clark, 2016).

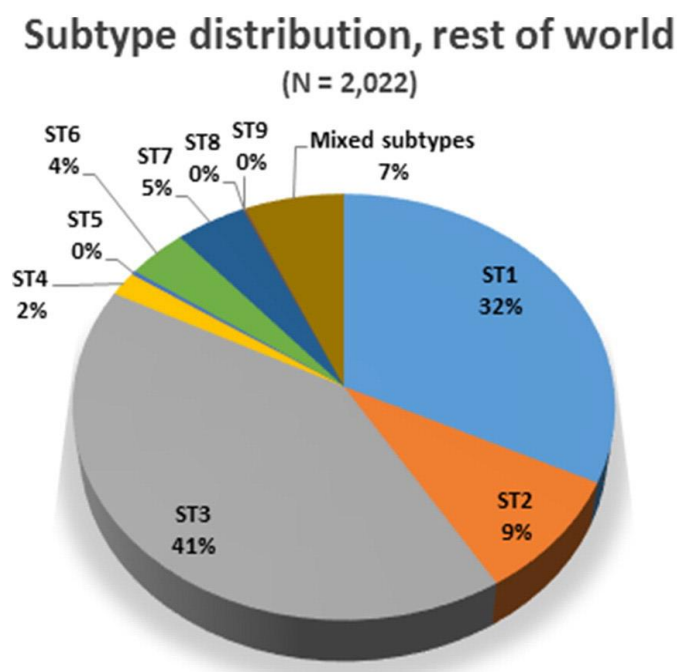


Figure 2: Distribution des STs de *Blastocystis* sp. dans la population non européenne (Stensvold et Clark, 2016) et prévalence significative des infections zoonotiques par les ST6 et ST7.

Jusqu'à récemment, les STs considérés comme adaptés aux Bovidae tels que les ST10 et ST14 n'avaient pas été retrouvés dans la population humaine. Or, un nombre grandissant d'enquêtes menées ces quatre dernières années ont révélé une fréquence non négligeable des ces STs chez l'homme comme au Vietnam (Nguyen et al., 2023), au Sénégal (Khaled et al., 2020) ou en Egypte (Naguib et al., 2023) renforçant ainsi le potentiel zoonotique déjà avéré de *Blastocystis* sp.

Modes de transmission

Comme détaillé ci-dessus, il est évident que la transmission zoonotique à travers des contacts directs et fréquents avec certains groupes d'animaux participe activement à la colonisation de la population humaine par *Blastocystis* sp. Il en est sans doute de même de la transmission anthroponotique par contact direct entre individus du fait de la très forte circulation des ST1 à ST4 dans la population humaine. Ce type de transmission reste cependant difficile à mettre en évidence. On note cependant une forte colonisation par *Blastocystis* sp. dans des camps de réfugiés syriens au Nord Liban où règne une grande promiscuité (Khaled et al., 2021). En outre, les ST1 et ST3 étaient largement prédominants et la faible diversité intra-ST observée au sein de ces deux STs démontrait une circulation active des mêmes isolats au sein de cette cohorte ayant des mouvements très limités en dehors de ces camps. Plusieurs autres études menées par exemple dans des orphelinats ou résidences de jeunes adultes en Asie où les personnes accueillies partageaient les mêmes installations communes ont mis en évidence une colonisation des individus par un même ST et variant génétique (Pipatsatitpong et al., 2012 ; Thathaisong et al., 2013). Toujours en ce sens, de nombreuses enquêtes ont avancé le risque accru de colonisation par *Blastocystis* sp. dans une même famille dès l'infection par un de ses membres (Osman et al., 2016).

Comme pour les autres protozoaires intestinaux, la transmission féco-orale indirecte à travers la consommation d'une eau contaminée par des kystes d'origine humaine ou animale est sans nul doute prépondérante. Cependant, très peu d'épisodes d'épidémies d'origine hydrique impliquant *Blastocystis* sp. ont été mentionnés dans la littérature pour une raison simple qui est que ce protozoaire n'est pas recherché dans le cadre d'analyses de l'eau de consommation (Baldursson et Karanis, 2011 ; Ma et al., 2022 ; Bourli et al., 2023). Une étude en Chine mentionne pourtant la contamination de plus d'un millier de personnes qui ont présenté des diarrhées en lien avec une eau contaminée par *Blastocystis* sp. (Wu et al., 2000). Une autre épidémie plus limitée a été observée en Turquie via la consommation d'une eau accidentellement contaminée par des eaux usées véhiculant ce protozoaire (Maçin et al., 2017). De même, plusieurs membres d'une même famille se sont plaints de troubles digestifs après avoir consommé une eau contaminée par *Blastocystis* sp. (Frealle et al., 2015 ; Angelici et al., 2018).

En parallèle, de nombreuses revues traitent de la présence de *Blastocystis* sp. dans différentes sources d'eaux que ce soit l'eau du robinet, les eaux de puits ou de réservoirs, les eaux usées ou récréatives ou l'eau servant à l'irrigation (Nemati et al., 2021 ; Rauff-Adetotun

et al., 2021 ; Barati et al., 2022 ; Ma et al., 2022 ; Attah et al., 2023 ; Bourli et al., 2023 ; Mahdavi et al., 2024). Sans rentrer dans les détails, les fréquences observées pour ce protozoaire sont extrêmement variables d'une étude à l'autre et d'un pays à l'autre en fonction de la source d'eau analysée (prévalence comprise entre 2,1 et 100%). Globalement, les ST1 à ST4 anthroponotiques étaient les plus prévalents et les plus largement distribués à travers le monde en lien avec une très probable contamination fécale d'origine humaine. D'ailleurs, ces mêmes STs ont été identifiés dans une rivière au Népal ou dans des réservoirs en Turquie ainsi que dans la population et chez les animaux se servant de ces sources d'eau pour leur consommation quotidienne (Eroglu et Koltas, 2010 ; Lee et al., 2012). Cette circulation du parasite est très probablement largement favorisée par l'inefficacité des traitements classiques des eaux usées sur la forme kystique de *Blastocystis* sp. comme démontré par Suresh et al. (2005) en dénombrant ces formes en entrée et en sortie de stations d'épuration. A côté de l'eau, les aliments souillés peuvent aussi représenter une source additionnelle de contamination à travers leur consommation. Quelques études ont été menées sur des légumes à feuilles ou frais ou sur des salades vendues en sachets mais une transmission via ces vecteurs n'a pas été réellement confirmée (Caradonna et al., 2017 ; Rauff-Adetotun et al., 2021). D'autres vecteurs de transmission de *Blastocystis* sp. pourraient être le sol ou l'air mais les données obtenues restent encore très limitées. En effet, seule une étude mentionne la détection de *Blastocystis* sp. dans le sol dans le cadre d'une approche One Health menée dans une région rurale de Thaïlande (Jinatham et al., 2021) et une autre dans un collecteur d'air en Corée du Sud (Han et al., 2018). Ce protozoaire a aussi été de manière inattendue fréquemment identifié dans des échantillons de poussières de lit en Equateur (Mejia et al., 2020).

Pathogénicité et traitement

La problématique de l'éventuelle pathogénicité de *Blastocystis* sp. s'est posée depuis de nombreuses années pour une raison simple qui est que l'énorme majorité des individus colonisés par ce protozoaire serait asymptomatique (Tan, 2008 ; Tan et al., 2010 ; Stenvold et Clark, 2016 ; Andersen et Stensvold, 2016). De plus, des individus peuvent être colonisés pendant des années sans jamais développer de troubles digestifs (Scanlan et al., 2014). Cependant, de nombreux cas cliniques bien détaillés ont été répertoriés mentionnant des individus présentant des symptômes gastro-intestinaux et chez lesquels seul *Blastocystis* sp.

avait été détecté dans les selles. De plus, le traitement anti-parasitaire administré chez ces individus éliminait le protozoaire dans les selles et entraînait aussi la disparition des symptômes mettant ainsi en avant le pouvoir pathogène de certains isolats de *Blastocystis* sp. (Janarthanan et al., 2011 ; Fréalle et al., 2015 ; Gil et al., 2016).

Pour répondre à la question de la réelle pathogénicité de *Blastocystis* sp., de nombreux travaux ont été menés dans différentes directions en prenant en compte la diversité génétique des isolats. Ainsi, les génomes de plusieurs STs ont été séquencés et des analyses comparatives ont permis d'identifier des familles de gènes présentant un nombre de copies très variable entre STs et pouvant être potentiellement impliquées dans la virulence de certains STs (Denoeud et al., 2011 ; Wawrzyniak et al., 2015 ; Gentekaki et al., 2017). C'est le cas par exemple de la famille des protéases à cystéine qui a déjà été identifiée comme ayant un rôle important dans la pathogénicité de nombreux protozoaires intestinaux et extra-intestinaux (Argüello-Garcia et al., 2023). En parallèle, un modèle animal reproductible de blastocystose n'est pas encore disponible puisqu'il est impossible pour l'instant d'obtenir des formes kystiques du parasite à partir de formes vacuolaires maintenues au laboratoire en culture axénique. Cependant, plusieurs infections expérimentales ont été réalisées dans différents modèles animaux à l'aide de kystes purifiés à partir de selles humaines ou animales. Toutes ces expérimentations animales ont été superbement synthétisées dans la revue de Ajjampur et Tan (2016) complétées par des publications plus récentes (Ruzkova et al., 2018 ; Yason et al., 2019 ; Defaye et al., 2020). Brièvement, ces expérimentations confirment, pour la plupart, la pathogénicité de certains isolats de *Blastocystis* sp. en décrivant une infection chronique, une dégradation de la barrière intestinale et/ou une invasion des tissus voire même la mort des animaux. Cependant, on se doit être très prudents sur l'interprétation de certains de ces résultats car tous les contrôles microbiologiques et virologiques nécessaires dans ce type d'expérimentations ne sont généralement pas réalisés sur les inoculats. D'autres études suggèrent que l'infection par *Blastocystis* sp. peut favoriser le développement d'un cancer colo-rectal existant (Kumarasamy et al., 2022 ; Tocci et al., 2024). Pour cela, le parasite induirait une altération de la réponse du système immunitaire de l'hôte, une inflammation et un stress oxydatif.

A ces travaux *in vivo* se sont associées des études *in vitro* afin de clarifier la physiopathologie de *Blastocystis* sp. Comme pour les approches *in vivo*, ces résultats ont été intégrés dans la revue récente de Ajjampur et Tan (2016) puis complétée par celle de Deng et

al. (2021) (Figure 13). Brièvement, et lors de la première étape de la colonisation, *Blastocystis* sp. a la capacité, via une probable sécrétion de différentes hydrolases (Ajjampur et al., 2016 ; Martínez-Ocaña et al., 2020), de dégrader la couche de mucine qui compose la première ligne de défense de l'épithélium intestinal. Une fois la couche de mucine dégradée, le parasite peut adhérer à l'épithélium intestinal préférentiellement au niveau des jonctions inter-cellulaires via l'implication probable de lectines à galactose (Wu et al., 2014a,b). Une fois attaché, *Blastocystis* sp. va sécréter des protéases à cystéine telles que la légumaïne et la cathepsine B (Wawrzyniak et al., 2012; Wu et al., 2010) qui vont désorganiser les complexes protéiques de ces jonctions principalement composés de ZO1 et d'occludine (Mirza et al., 2012). Cette dégradation structurale massive entraîne, de fait, une augmentation de la perméabilité intestinale. Dans le cadre de ces approches *in vitro* impliquant des co-cultures de parasites avec des cellules épithéliales intestinales ou le traitement de ces mêmes cellules intestinales avec des lysats de parasites ou des filtrats de cultures de parasites, il a été montré que cet effet délétère sur l'épithélium intestinal était clairement ST dépendant. En effet, seul le ST7 aviaire induit cette dégradation de l'épithélium ce qui n'est pas le cas du ST4 (Mirza et al. 2012 ; Wu et al. 2014a,b).

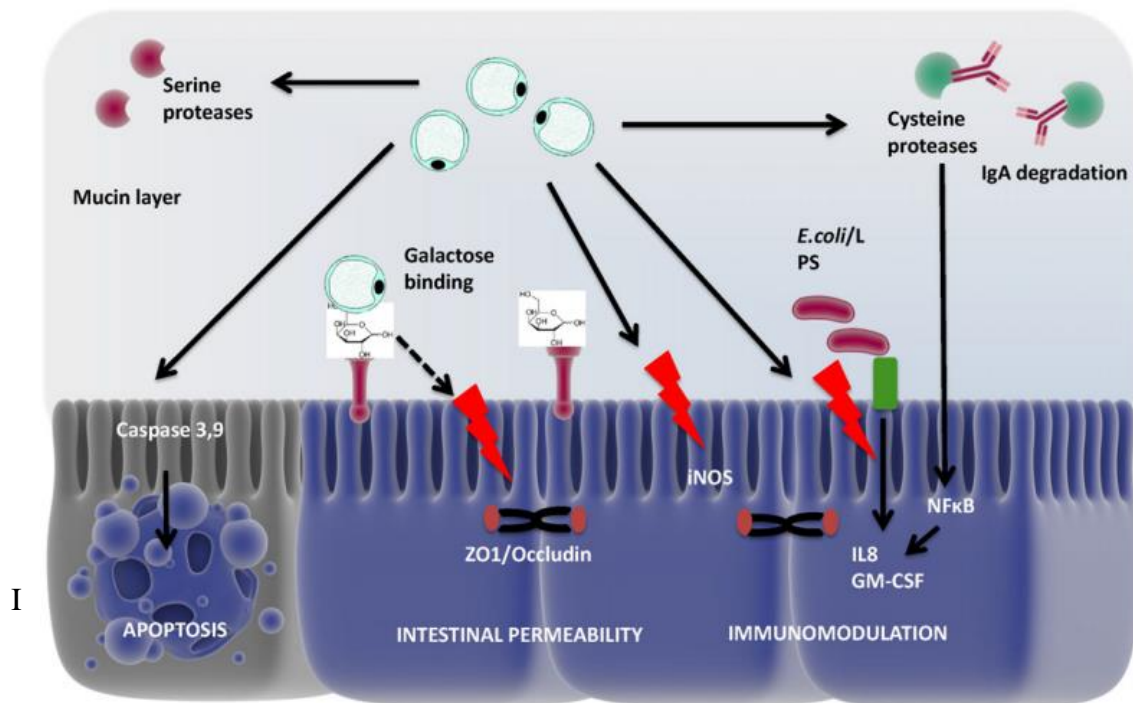


Figure 3: Représentation schématique des mécanismes et protéines impliqués dans la pathogénicité de *Blastocystis* sp. (Ajjampur et Tan, 2016).

Blastocystis sp. a aussi la capacité d'échapper au système immunitaire de l'hôte via différents mécanismes (Ajjampur et Tan, 2016 ; Deng et al., 2021). Les protéases à cystéine sécrétées par le parasite induisent non seulement la production de cytokines pro-inflammatoires (Puthia et al., 2008) mais dégradent aussi les IgA présentes à la surface de l'épithélium intestinal (Puthia et al., 2005). Par ailleurs, *Blastocystis* sp. résiste aux peptides antimicrobiens produits par les cellules épithéliales intestinales en les dégradant et en induisant une acidification de l'environnement, réduisant ainsi l'efficacité de ces peptides (Yason et al., 2016). Enfin, *Blastocystis* sp. parvient également à échapper au stress nitrosatif induit par les cellules intestinales en réprimant la production d'oxyde nitrique. Il y parvient par l'inhibition de l'expression de la NO synthase inductible, en limitant la biodisponibilité de la L-arginine, substrat de cette enzyme (Mirza et al., 2011).

Une certaine proportion d'isolats de *Blastocystis* sp. étant potentiellement pathogènes, la mise en place d'un traitement de la blastocystose peut donc s'imposer. Il est généralement admis que cela concernera un patient présentant des troubles digestifs persistants sans autre agent responsable que *Blastocystis* sp. (Stensvold et al., 2010 ; Coyle et al., 2012). De ce fait, et au contraire d'autres protozoaires intestinaux comme *Giardia* ou *Entamoeba*, les porteurs asymptomatiques de *Blastocystis* sp. ne sont pas traités ce qui naturellement facilite la transmission de ce microorganisme (Coyle et al., 2012). En général, la première ligne de traitement est représentée par le métronidazole (Dinleyici et al., 2011; Tai et al., 2011). Même si cette drogue entraîne souvent une éradication du parasite et une disparition des symptômes (Fréalles et al., 2015), plusieurs études ont montré une efficacité très variable de ce traitement en lien avec une forte différence de sensibilité des isolats (Nagel et al., 2012; Salvador et al., 2016) et de nombreux cas de résistance ou d'inefficacité ont même été décrits (Batista et al., 2017 ; Rajamanikam et al. 2018). Roberts et al. (2015) vont même plus loin puisque leurs travaux montraient une faible sensibilité *in vitro* au métronidazole d'une dizaine d'isolats de STs différents suggérant que le traitement actuel de la blastocystose devait être revu. Les mêmes auteurs proposent ainsi d'utiliser le mélange triméthoprime / sulfaméthoxazole comme première ligne de traitement puisqu'il montrait la plus forte efficacité *in vitro* dans leur étude. D'autres drogues peuvent aussi être utilisées avec succès telle que le nitazoxanide (Toychiev et al., 2021), la paromomycine (Vogelberg et al., 2010), le mélange furazolidone, nitazoxanide et secnidazole (Roshan et al., 2020) de même que

l'auranofine (Yason et al., 2018) et l'atorvastatine (Basyoni et al., 2018) couplées au métronidazole.

Impact de la colonisation sur le microbiote intestinal de l'hôte

L'impact de *Blastocystis* sp. sur le microbiote de l'hôte est un thème d'intérêt majeur qui reste cependant encore débattu comme peut en témoigner le nombre important de revues récemment publiées (Dubik et al., 2022 ; Rojas-Velasquez et al., 2022 ; Aykur et al., 2024). Ainsi, des études récentes indiquent qu'une infection par *Blastocystis* sp. pourrait être associée à des altérations des abondances de bactéries intestinales bénéfiques et nuisibles. Mon équipe d'accueil a été la première en 2016 à rapporter que la colonisation par *Blastocystis* sp. était associée à une diversité accrue du microbiote bactérien intestinal humain (Audebert et al., 2016). Plus précisément, ces auteurs ont montré une plus grande abondance de *Clostridia* et une moindre abondance d'*Enterobacteriaceae* dans le microbiote fécal des patients colonisés par *Blastocystis* sp. par rapport aux individus non colonisés, concluant que cette colonisation est généralement associée à un microbiote intestinal sain. Even et al. (2021) ont confirmé que la colonisation par *Blastocystis* sp. a un impact majeur sur la diversité taxonomique du microbiote intestinal et ont également observé des abondances relatives plus élevées de *Ruminococcaceae* et de *Clostridiales* chez les patients colonisés par le protozoaire. Dans une étude visant à évaluer l'effet de *Blastocystis* sp. sur le microbiote intestinal chez des enfants en bonne santé, la diversité du microbiote intestinal et la proportion de bactéries bénéfiques se sont avérées plus élevées chez les enfants colonisés par *Blastocystis* sp. que chez ceux qui ne l'étaient pas (Kodio et al., 2019). Ces résultats ont été corroborés par une étude plus tardive montrant aussi une augmentation significative de la richesse bactérienne chez les enfants colonisés par *Blastocystis* sp. (Alzate et al., 2020).

Pour ce qui est des données sur les relations entre les STs de *Blastocystis* sp. et le microbiote intestinal, elles restent encore trop limitées dans la littérature. Pour ce qui est des STs considérés comme anthroponotiques, le ST1 aurait des effets bénéfiques sur le microbiome intestinal en augmentant, tout particulièrement, les niveaux d'*Alloprevotella* et d'*Akkermansia*, des bactéries bénéfiques pour la santé intestinale, dans un modèle murin (Deng et al., 2023). Le ST3, qui est prédominant à travers le monde, a été associé à une augmentation des bactéries bénéfiques telles que les *Bacillota* (syn. *Firmicutes*) et *Bacteroidota* (syn. *Bacteroidetes*) dans le microbiome intestinal humain (Andersen et al.,

2015). Dans une étude sur la colonisation par ST3 cette fois-ci chez le rat, aucune influence significative sur la diversité bactérienne n'a par contre été observée (Billy et al., 2021). Récemment, il a aussi été rapporté que *Blastocystis* sp. ST4 est bénéfique pour l'intestin en augmentant la diversité du microbiome intestinal (Tito et al., 2019 ; Deng et al., 2022a et b ; Feranmi et al., 2022). La colonisation par ce ST favorise l'abondance de groupes bactériens appartenant aux *Akkermansia* spp., à la famille des *Lachnospiraceae* et à la classe des *Clostridia*, considérés comme bénéfiques pour la santé intestinale, et inhibe la prolifération des *Bacteroides* spp., *Escherichia* spp. et *Shigella* spp. dans l'intestin, ce qui contribue à la réduction de l'inflammation intestinale. Bien que le ST7 aviaire zoonotique soit moins fréquent chez les humains par rapport aux STs anthrponotiques, il a été montré que ST7 peut perturber l'équilibre du microbiote intestinal, notamment en réduisant *Bifidobacterium longum* et *Lactobacillus brevis* qui sont des bactéries bénéfiques du microbiote intestinal (Yason et al., 2019) Fait intéressant, il a été démontré que les patients avec plusieurs STs présentaient une diversité bactérienne intestinale plus élevée que ceux ayant un seul ST (Even et al., 2021).

4. Quelques généralités sur *Cryptosporidium* spp.

Description morphologique et pathogénicité

Ce parasite infecte le tractus gastro-intestinal et plus rarement les poumons (Sawant et al., 2020). Les membres de ce phylum possèdent un ensemble d'organites spécialisés et impliqués dans l'invasion de la cellule hôte dénommé le complexe apical (Guérin et Striepen, 2020) (Figure 14).

Cryptosporidium est un protozoaire parasite appartenant au phylum des Apicomplexa et à l'ordre des coccidies et pouvant infecter le tractus gastro-intestinal et plus rarement les poumons de différents groupes d'animaux tels que les oiseaux, les reptiles, les amphibiens, les poissons et les mammifères (Chalmers et al., 2019). *Cryptosporidium* a été découvert en 1907 par Tyzzer chez la souris (Tzipori et al., 2008). La cryptosporidiose a d'abord été identifiée comme une infection animale, et les premiers cas d'infections humaines n'ont été signalés qu'au milieu des années 1970. L'infection a continué à être largement méconnue comme une cause primaire de maladie diarrhéique jusqu'à l'apparition de la pandémie mondiale de VIH, lorsque *Cryptosporidium* est devenu l'une des premières entités définissant le SIDA (Chalmers

et al., 2019). Les membres de ce phylum possèdent un ensemble d'organites spécialisés et impliqués dans l'invasion de la cellule hôte dénommé complexe apical (Guérin et al., 2020) (Figure 4).

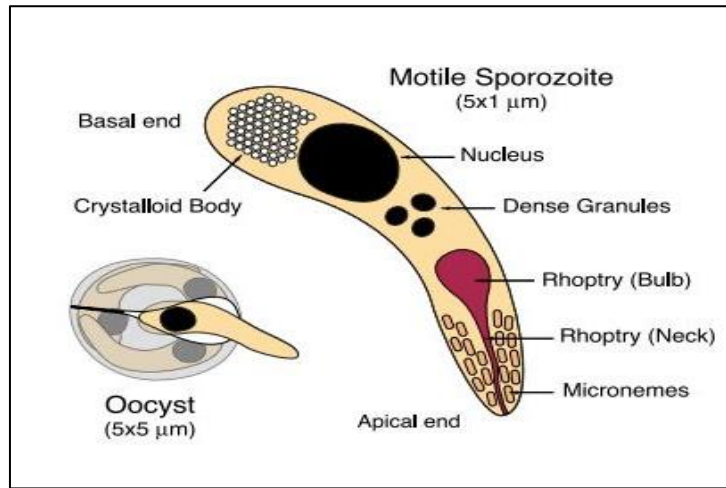


Figure 4: Représentation schématique de l'oocyste et du sporozoïte de *Cryptosporidium* spp. L'organisation polarisée du sporozoïte comprend le complexe apical, les granules denses, les micronèmes et la roptrie (Guérin et Striepen, 2020).

La cryptosporidiose se transmet par ingestion d'oocystes présents dans l'eau ou les aliments contaminés par des matières fécales, ou par contact avec une personne infectée (Fayer et al., 2000). Les oocystes représentent la forme de résistance et de propagation de ce parasite et sont infectieux immédiatement après l'excrétion. Cette forme évolutive est résistante aux désinfectants courants et à la chloration de l'eau, et peut rester viable et infectieuse pendant plusieurs mois à des températures comprises entre 0°C et 30°C (Ripert et Guyot, 2003). À ce jour, aucun traitement spécifique efficace n'est disponible contre cette parasitose qui touche principalement les jeunes enfants et les patients sidéens (Robertson et al., 2020). En effet, *Cryptosporidium* est contrôlé par l'immunité cellulaire et la défaillance observée au cours du SIDA explique l'émergence de cette zoonose. Il faut, de plus, prendre en compte le fait que lorsqu'un patient présente un taux de lymphocytes CD4+ inférieur à 150 par mm³, il est considéré comme susceptible de contracter une cryptosporidiose (Pozio et Morales, 2005). Les individus immunocompétents infectés par le parasite développent fréquemment une gastroentérite avec diarrhée auto-résolutive alors que chez les immunodéprimés, cette diarrhée devient chronique et peut être fatale (Fayer et al., 2000).

Biologie et cycle de vie

Cryptosporidium infecte principalement le tractus gastro-intestinal de l'hôte avec des effets délétères pour l'épithélium. Ce cycle de développement qui est réalisé chez un seul hôte (parasite monoxène) comporte deux mérogonies ou multiplications asexuées, suivies de la gamétogonie ou multiplication sexuée. Le cycle débute par l'ingestion d'oocystes sporulés contenant quatre sporozoïtes. Une fois dans le tractus gastro-intestinal, ces oocystes subissent un désenkystement avec la libération des sporozoïtes (Gunasekera et al., 2020) (Figure).

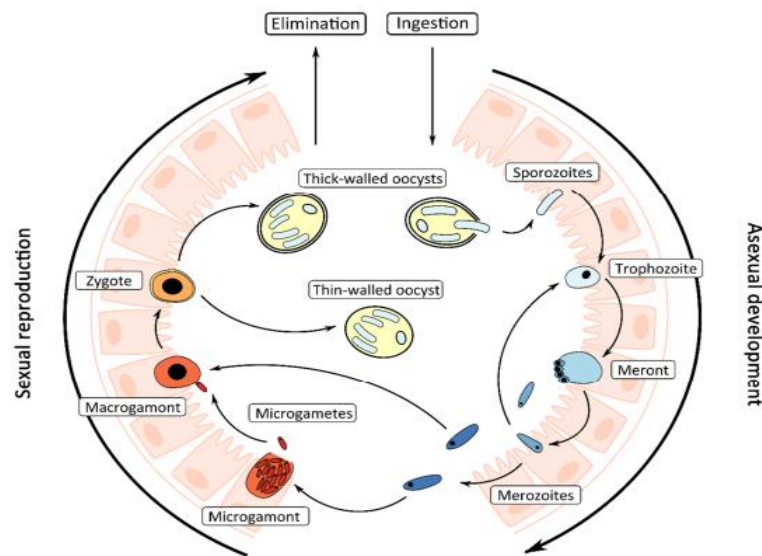


Figure 5: Cycle de vie et stades de développement de *Cryptosporidium* spp. (Gunasekera et al., 2020).

Une fois les sporozoïtes libérés dans la lumière intestinale, ceux-ci pénètrent les cellules épithéliales à travers la muqueuse recouvrant l'épithélium (English et al., 2022). Toutefois, le mécanisme par lequel ils franchissent cette barrière n'est pas encore clarifié et plusieurs hypothèses ont été évoquées pour expliquer ce mécanisme (Lendner et Dauschies, 2014). Cela pourrait être dû à des protéases sécrétées par le parasite ou tout simplement à un phénomène mécanique ou tout autre mécanisme encore inconnu. Les sporozoïtes sont ensuite intériorisés dans une structure bimembranaire appelée vacuole parasitophore. Cette vacuole intramembranaire et extracytoplasmique héberge le parasite au niveau du pôle apical de la cellule hôte. Dans cette vacuole où le parasite est hébergé, le sporozoïte se transforme en trophozoïte (Guerin et Striepen, 2020). Les trophozoïtes subissent 3 cycles de

multiplications asexuées synchrones produisant des mérontes contenant 8 mérozoïtes (English et al., 2022). Les mérozoïtes sont libérés et vont de nouveau envahir des cellules épithéliales. Par des mécanismes encore inconnus, ces mérozoïtes sont programmés pour se différencier soit en microgamonte mâle, soit en macrogamonte femelle. Les microgamontes deviennent multinucléés, chaque noyau étant ensuite incorporé dans un microgamète. Les macrogamontes demeurent uninucléés en devenant des macrogamètes. La fécondation a lieu suite à l'union des macrogamètes et des microgamètes. La fécondation de ces gamètes donne ensuite naissance à un zygote diploïde qui subit un processus similaire à la méiose (sporogonie), donnant alors naissance à quatre sporozoïtes haploïdes dans un oocyste (oocyste sporulé). Les oocystes résultants à paroi fine ou épaisse sont libérés dans la lumière intestinale puis excrétés dans l'environnement pour infecter d'autres hôtes (English et al., 2022). Les différentes phases du cycle parasitaire (désenkystement, adhésion, invasion, multiplication et survie du parasite chez l'hôte...) peuvent expliquer la virulence et la résistance du parasite (Bouzid et al., 2013)

Taxonomie, diversité génétique et spécificité d'hôte

À l'origine de sa découverte et durant les années qui ont suivies, *Cryptosporidium* a été classé dans la catégorie des coccidies au sein du phylum des Apicomplexa. Par la suite, plusieurs recherches ont permis d'associer *Cryptosporidium* aux grégarines sur la base de similitudes moléculaires et biologiques, notamment, la présence d'un organite "nourricier" et une localisation épicytellaire dans les cellules de l'hôte. Le séquençage initial du génome entier d'*Ascogregarina taiwanensis* a confirmé l'existence d'une relation monophylétique entre cette grégarine et *Cryptosporidium*, mais a mis également en évidence des différences significatives dans leurs capacités métaboliques. En 2014, sur la base de données du gène de l'ADNr 18S, Cavalier-Smith a révisé la taxonomie et transféré *Cryptosporidium* des coccidies aux grégarines et a créé une nouvelle sous-classe, les Cryptogregarina, au sein de la classe des Gregarinomorpha. En 2019, Adl et al. ont modifié cette sous-classe pour en faire la sous-classe des Cryptogregarinorida au sein des Gregarinasina. L'analyse transcriptomique d'un plus grand nombre de parasites apicomplexes suggère que *Cryptosporidium* représente une lignée distincte des grégarines et qu'une nouvelle révision taxonomique est clairement nécessaire. *Cryptosporidium* a également été suggéré comme étant la lignée d'apicomplexes ayant divergé le plus tôt au cours de l'évolution (Ryan et al., 2021).

De nos jours, les techniques moléculaires utilisant l'ARNr 18S et la GP60 comme marqueurs ont permis de différencier les espèces et sous-types de *Cryptosporidium* spp., facilitant ainsi la caractérisation de la transmission chez l'homme et l'animal, et en mettant en évidence les différentes sources d'infection. À l'heure actuelle, 46 espèces de *Cryptosporidium* ont été décrites avec une spécificité d'hôte variable (Ryan et al., 2021). Les espèces qui parasitent le plus souvent l'homme sont *C. parvum* et *C. hominis*, bien que des infections par d'autres espèces telles que *C. meleagridis*, *C. felis* et *C. canis* ont été signalées, principalement chez des patients immunodéprimés (Xiao et al., 2001).

Epidémiologie et transmission

La cryptosporidiose est depuis récemment considérée comme l'une des principales causes de diarrhées parasitaires chez l'homme à travers le monde. Cependant, sa prévalence est très variable selon la zone géographique. *Cryptosporidium* a été isolé dans 95 pays sur tous les continents et sous toutes les latitudes à l'exception de l'Antarctique. La prévalence mondiale de la cryptosporidiose humaine est estimée entre 0,5 et 2 % dans les pays développés et peut être supérieure à 10 % dans les pays en voie de développement (Sawant et al., 2020). Par exemple, en Afrique et en Asie, *Cryptosporidium* spp. serait responsable de 7,6 millions de cas de cryptosporidiose par an et serait la deuxième cause de mortalité par diarrhée chez l'enfant âgée de 12 à 24 mois (Kotloff et al., 2013; Delahoy et al., 2018). Dans les pays développés, le nombre de cas de cryptosporidiose est plus faible (700 cas pour 100000 habitants en Angleterre et 4000 cas pour 100000 habitants au Pays-bas) (Cacciò et Chalmers, 2016). *Cryptosporidium* serait également considéré comme responsable de 60% des épidémies d'origine hydrique dans le monde (Efstratiou et al., 2017). L'impact de ce parasite protozoaire est donc plus important dans les pays à faible revenu, où l'endémicité, les mauvaises conditions sanitaires et l'accès limité à l'eau filtrée limitent les pratiques de diagnostic et les soins de santé, déterminant des taux élevés de morbidité et de mortalité, en particulier chez les enfants de moins de cinq ans (King et al., 2019).

La cryptosporidiose est une maladie à transmission féco-orale et les oocystes sont infectants dès leur émission, tout en étant extrêmement résistants dans l'environnement. En conséquence, la cryptosporidiose est une parasitose non seulement à transmission directe par le contact avec un sujet ou un animal infecté, mais aussi à transmission indirecte, via l'eau et les aliments souillés par des oocystes d'origine humaine ou animale. En outre, l'ingestion

d'une quantité relativement faible d'oocystes est infectante. Pour l'espèce *C. hominis*, la transmission interhumaine (transmission anthroponotique) est la principale source de contamination. Pour *C. parvum* et les autres espèces animales, la contamination de l'homme s'effectue principalement au contact d'un animal infecté (transmission zoonotique). Dans le cadre de la transmission indirecte, l'eau est le principal véhicule de la contamination, qu'il s'agisse d'eau de surface (lac, rivière), d'eau d'arrosage, d'eau de loisir (piscine) ou d'eau destinée à la consommation humaine (Guyot et al., 2012).

La majorité des épidémies de cryptosporidiose sont d'origine hydrique à travers la consommation d'eau contaminée (Efstratiou, et al., 2017). La première grosse épidémie de diarrhée aigüe d'origine hydrique est survenue aux USA en 1993 chez les habitants de la ville de Milwaukee avec plus de 400 000 personnes touchées. Dès lors, la recherche sur ce parasite considéré comme opportuniste et répandu chez les personnes immunodéprimées a été considérée comme essentielle (Mac Kenzie et al., 1994). En effet, la cryptosporidiose constitue un problème sanitaire avec près de 48 000 décès en 2016 dans le monde chez les enfants âgés de moins de cinq ans principalement dans les pays sous-développés où l'incidence de l'infection est plus élevée (Khalil et al., 2018).

Dans les pays développés et en particulier en Europe, cette infection reste sous diagnostiquée et son importance méconnue. Par exemple en France, *Cryptosporidium* est détecté dans 1,2 % des fèces lorsque sa recherche est systématique au cours d'un examen parasitologique de selles. La plupart des cas diagnostiqués en France sont rapportés chez les enfants de moins de 5 ans. Les principaux facteurs de risque qui ont été identifiés en France sont le contact avec un animal infecté, la baignade en eau douce (rivière ou piscine) particulièrement en été ou en début d'automne (périodes propices à la contamination), le contact avec une personne infectée mais également la consommation de crudités (basilique, coriandre) (CNR Cryptosporidioses, 2018). Selon les statistiques, en Europe, le nombre de personnes infectées par *C. parvum* serait similaire au nombre de personnes infectées par *C. hominis* (Khan et al., 2018). Cette dernière espèce est en revanche minoritaire en France (Costa et al., 2020). Il a aussi été démontré qu'en France et dans le reste du monde, la plupart des cas de cryptosporidiose à *C. parvum* sont causées par le sous-type IIaA15G2R1 et que les cas de parasitose à *C. hominis* sont dus majoritairement au sous-type IbA10G2 (Costa et al., 2020). Hormis les cas sporadiques, des épidémies ont pu être identifiées en France depuis la mise en place, en 2017, du Centre National de Référence (CNR) Cryptosporidioses. Lors de l'été 2017,

dans le Lot-et-Garonne, plus de 150 personnes ont été contaminées par l'eau du robinet. Des cas de contamination ont été également rapportés en Guyane successivement en 2017 et en 2018. Toujours en 2018, une autre épidémie a été rapportée dans un collège de Loire-Atlantique, liée à la consommation de fromage blanc d'où la nécessité d'un contrôle sanitaire des produits laitiers à consommation humaine (CNR Cryptosporidioses, 2018).

La cryptosporidiose affecte le plus souvent les patients immunodéprimés, chez lesquels le diagnostic est facile avec la persistance des symptômes. Chaque année, en France, environ une centaine de cas est détectée chez les personnes immunodéprimées (Costa et al., 2020). La moitié de ces personnes ont bénéficié d'une transplantation d'organe, un quart sont infectés par le VIH et le quart restant souffre de maladies auto-immunes ou de déficits immunitaires. Le taux de mortalité est proche de 5 % (Costa et al., 2020).

Situation de la cryptosporidiose en Afrique

Il est évident que la cryptosporidiose a un impact considérable en santé publique et en particulier dans les pays à faible revenu où le principal mode de contamination est la transmission interhumaine. La plupart des pays africains sont classés, selon les définitions de la Banque Mondiale, comme ayant une économie à faible revenu ou à revenu moyen inférieur, à l'exception de l'Algérie, du Botswana, du Gabon, de la Guinée équatoriale, de la Libye, de Maurice, de la Namibie et de l'Afrique du Sud, qui sont classés comme ayant un revenu moyen supérieur, et des Seychelles, qui ont un revenu élevé. Sur les 31 pays classés dans le monde comme faisant partie du groupe des revenus les plus faibles, 24 d'entre eux (77 %) se trouvent en Afrique (Robertson et al., 2020). Malgré l'impact potentiel majeur de *Cryptosporidium* en santé publique, peu d'enquêtes épidémiologiques ont été menées en Afrique, et à notre connaissance, aucune donnée n'est disponible en Guinée, pays potentiellement à risque.

L'une des premières études portant sur l'impact de *Cryptosporidium* dans un pays africain a été réalisée en Guinée-Bissau. Cette étude a démontré que le parasite était associé à une haute mortalité chez les enfants de moins de 2 ans (Molbak et al., 1993). Plus récemment, l'étude Global Enteric Multicenter Study (GEMS) englobant une cohorte de plus de 20 000 enfants a fourni les premières estimations mondiales concernant l'impact de la cryptosporidiose dans différents groupes d'âge et différents pays. En particulier, la cryptosporidiose représente la seconde cause de mortalité par diarrhée chez les enfants âgés de 12 à 24 mois en Afrique et en Inde (Kotloff et al., 2013, Khalil et al., 2018). Les facteurs de

risque retrouvés associés à l'infection sont une densité élevée de population, des conditions d'hygiène très précaires, une absence de traitement des eaux usées et un jeune âge (Kotloff et al., 2013).

A l'heure actuelle, l'infection par *Cryptosporidium* chez les enfants de moins de 5 ans est associée à 44,8 millions d'épisodes diarrhéiques et à 48 300 décès dans le monde (Khalil et al., 2018). La grande majorité de ces cas provenaient d'Afrique, où 75% des épisodes diarrhéiques et 88% des décès ont été rapportés. En Afrique subsaharienne, on note que la prévalence de la diarrhée en lien avec l'infection par *Cryptosporidium* spp. est plus élevée, notamment au Nigéria et en République démocratique du Congo avec environ 48 % des décès d'enfants de moins de 5 ans. En tenant compte des effets en aval comme les retards de croissance associés à la cryptosporidiose, il a été estimé que la prévalence de ce parasite pourrait être 2,5 fois plus élevée que les estimations précédentes, et il a été reconnu que la prise en compte de la charge directe ou indirecte des infections asymptomatiques pourrait faire grimper de manière significative ces estimations (Khalil et al., 2018).

Cette prévalence élevée est associée aux facteurs de risque tels qu'une mauvaise hygiène de vie et la précarité (Hossain et al., 2019, Odeniran et al., 2019). En Afrique subsaharienne, la transmission prédominante semblerait être anthroponotique puisque *C. hominis* est l'espèce majoritaire (Aldeyarbi et al., 2016). De plus, parmi les infections humaines à *C. parvum* dans divers pays d'Afrique subsaharienne, le sous-type GP60 de la famille IIc (anciennement Ic, proposé aujourd'hui comme *C. parvum anthroponosum*) est souvent prédominant (Nader et al., 2019). Il s'agit d'un sous-type adapté à l'homme et associé presque exclusivement aux infections à transmission anthroponotique (Robertson et al., 2020). D'autre part, bien qu'il n'y ait pas de rapports publiés sur des épidémies de cryptosporidiose parmi le bétail en Afrique, plusieurs études provenant de différentes régions africaines ont fait état de diarrhées chez les veaux sans qu'il y ait d'attribution claire à un agent étiologique spécifique (Robertson et al., 2020).

Dans la méta-analyse réalisée par Squire et Ryan en 2017 compilant les études réalisées en Afrique, *C. parvum* et *C. hominis* étaient les principales espèces infectantes de l'homme particulièrement les personnes immunodéprimées et les enfants de moins de 5 ans. Les résultats de cette méta-analyse sont résumés dans le tableau ci-dessous (Table 2).

Table 2: Résultats de la méta-analyse sur les espèces de *Cryptosporidium* et leurs sous-types répertoriés chez l'humain en Afrique (Squire et Ryan, 2017).

Country	Patient group	<i>Cryptosporidium</i> species (Prevalence in %) ^a	gp60 subtypes	Reference
Ethiopia	HIV/AIDS patients	<i>C. parvum</i> (65.7)	IIaA13G2R1; IIaA14G2R1; IIaA15G2R1 ^b ; IIaA16G2R1; IIaA16G3R1; IIaA17G2R1; IIaA18G2R1; IIaA19G1R; IIbA12; IIcA5G3a; IIIdA17G1; IIIdA19G1; IIIdA22G1; IIIdA24G1; IIeA12G1; If-like	[23]

County	Patient group	<i>Cryptosporidium</i> species (Prevalence in %) ^a	<i>gp60</i> subtypes	Reference
		<i>C. meleagridis</i> (5.3)		
		<i>C. suis</i> (3.6)		
Kenya	HIV infected and uninfected children (5 years)	<i>C. hominis</i> (82.8)	laA25R5; laA27R3; laA30R3; laA/R1; lbA9G3; lbA9G3R2; ldA22; ldA24; ldA19; ldA25; ldA21; ldA20; ldA17G1; ldA18; ldA15G1; ldA23G1; leA11G313R1 ^b ; leA11G3T3; lfA19G1; lfA14G1; lfA12G1	[115]
		<i>C. parvum</i> (11.9)	llcA5G3R2	
		<i>C. felis</i> (2.6)		
		<i>C. meleagridis</i> (1.3)		
		<i>C. parvum</i> + <i>C. hominis</i> (0.7)		

Country	Patient group	<i>Cryptosporidium</i> species (Prevalence in %) ^a	<i>gp60</i> subtypes	Reference
Nigeria	Children (195–72 months)	<i>C. cuniculus</i> (C. rabbit genotype) (6.5)		[86]
		<i>C. ubiquitum</i> (C. cervine genotype) (3.9)		
		<i>C. canis</i> (1.3)		
		<i>C. hominis</i> (37.3)		
		<i>C. parvum</i> (35.3)		
		<i>C. parvum</i> + <i>C. hominis</i> (7.8)		
		<i>C. meleagridis</i> (7.8)		
		<i>C. cuniculus</i> (C. rabbit genotype) (3.9)		
Nigeria	Diarrhoeal and non-diarrhoeal children (1 to > 12 months)	<i>C. ubiquitum</i> (C. cervine genotype) (2.0)		[87]
		<i>C. canis</i> (2.0)		
		<i>C. hominis</i> (60.0)	laA24R3 ^b , lbA13G3	
		<i>C. parvum</i> (40.0)	llcA5G3k	
Nigeria	Patients (2 months to 70 years)	<i>C. hominis</i> (66.7)	laA23R3; laA25R3	[166]
		<i>C. parvum</i> (33.3)	lleA10G1	
Nigeria	HIV-infected patients (22–65 years)	<i>C. hominis</i> (50.0)	leA11G3T3	[101]

Country	Patient group	<i>Cryptosporidium</i> species (Prevalence in %) ^a	<i>gp60</i> subtypes	Reference
Tunisia	Immunocompetent and immunodeficiency children	<i>C. meleagridis</i> (20.0)		[140]
		<i>C. hominis/C. meleagridis</i> (20.0)		
		<i>C. parvum</i> (42.1)		
Uganda	Volunteers (1.9 months to 75 years)	<i>C. hominis</i> (36.8)		[107]
		<i>C. meleagridis</i> (21.1)		
		<i>C. parvum</i> (97.1)		
Uganda	Children (2-84 months)	<i>C. parvum</i> or <i>C. hominis</i> or <i>C. cuniculus</i> (2.9)		[148]
		<i>C. hominis</i> (74.4)	Ia; Ib; Id; Ie ^b	
		<i>C. parvum</i> (18.3)	IIc ^b ; IIg; IIh; III	
		<i>C. hominis</i> + <i>C. parvum</i> (3.7)		
Uganda	Children with persistent diarrhoea, with and without HIV/AIDS (< 6 months)	<i>C. meleagridis</i> (3.7)		[70]
		<i>C. hominis</i> (73.7)		
		<i>C. parvum</i> (18.4)		
		<i>C. parvum</i> + <i>C. hominis</i> (3.9)		
Uganda	People who share habitats with free ranging gorillas	<i>C. meleagridis</i> (3.9)		[191]
Zambia	Dairy farm workers and their household members	<i>C. parvum</i> (100)		[118]
		<i>C. hominis</i> (20.0)		

^aPrevalence of *Cryptosporidium* spp. in faecal samples of diarrhoeal children or immunodeficient children.
^bDominant *gp60* subtype

Les études menées dans des zones tropicales notent une augmentation de l'incidence de la cryptosporidiose pendant la saison chaude et pluvieuse alors que les études menées dans de zones tempérés reportent des augmentations de l'incidence de l'infection plutôt au printemps et à l'automne (Jagai et al., 2009). Cela s'expliquerait par le fait que la concentration d'oocystes de *Cryptosporidium* augmente dans l'eau potable et les sources d'eau de surface dues au ruissellement après de fortes pluies. En outre, la faune et les activités agricoles

peuvent à leur tour être affectées par des caractéristiques météorologiques telles que la température et les précipitations en influençant indirectement la transmission de la cryptosporidiose. Cependant, d'autres facteurs peuvent également expliquer cette saisonnalité comme les installations de loisirs puisque les piscines par exemple, souvent utilisées pendant les mois les plus chauds de l'année, ont également été associées à des épidémies de cryptosporidiose (Jagai et al., 2009).

Physiopathologie

Cryptosporidium occupe une niche unique dans les cellules épithéliales de l'hôte, où il est enfermé dans une vacuole parasitophore d'origine à la fois parasitaire et cellulaire. Cette localisation dans la cellule est décrite comme "intracellulaire mais extracytoplasmique". La base de la vacuole parasitophore est adjacente au cytoplasme de la cellule hôte et un "organite nourricier" est situé à l'interface, vraisemblablement pour faciliter le transport dans et hors de la vacuole. La vacuole parasitophore possède une surface apicale orientée vers la lumière gastro-intestinale (Guerin et Striepen, 2020). Les cellules épithéliales intestinales et la muqueuse de l'intestin forment une barrière de protection physique contre de nombreux pathogènes et servent également d'interface entre la lumière et l'intestin et le système immunitaire sous-jacent. Les lésions de ces barrières en raison d'une infection ou d'une inflammation peuvent entraîner une augmentation de l'absorption ou altérer les jonctions serrées entre les cellules épithéliales en augmentant la perméabilité intestinale (Mead, 2023). Histologiquement, une atrophie villositaire associée à une fusion occasionnelle des villosités peut être observée. Les cryptes affectées sont partiellement dilatées. La muqueuse de la lamina propria contient des granulocytes neutrophiles et une importante infiltration de cellules mononucléaires (Helmy et Hafez, 2022). Chez l'hôte infecté, une dégénérescence des cellules épithéliales et/ou une métaplasie et hyperplasie de l'épithélium peuvent être observées à proximité des différents stades parasitaires intracellulaires. Ces altérations pathologiques entraînent également une réduction de la surface d'absorption intestinale et, par conséquent, de la malabsorption. Les lésions de l'épithélium intestinal peuvent également avoir un impact sur l'activité des enzymes de la membrane en brosse (glucoamylase, alpha-dextrinase, saccharase, lactase), ce qui entraîne une réduction de la capacité de l'intestin grêle à digérer les hydrates de carbone. En conséquence, les particules osmotiquement actives persistent dans la lumière intestinale et une diarrhée osmotique se développe (Certad et al.,

2017) (Figure 9). Les symptômes les plus communs décrits dans plusieurs études sont les diarrhées et les troubles gastro-intestinaux très récurrents chez les personnes immunodéprimées et les enfants de moins de 5 ans (Bouزيد et al., 2013).

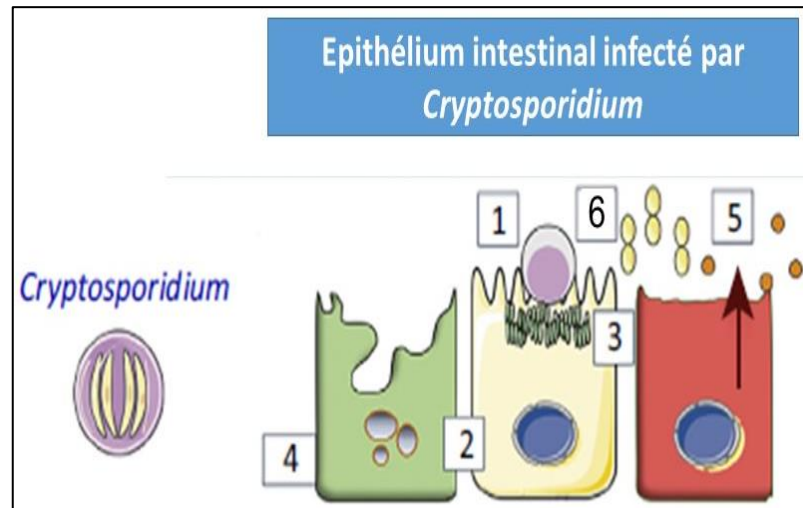


Figure 9: Principales interactions entre *Cryptosporidium* spp. et les cellules épithéliales intestinales. 1. Vacuole parasitophore. 2. Perturbation de la barrière intestinale. 3. Polymérisation des filaments d'actine. 4. Apoptose cellulaire. 5. Plusieurs molécules, telles que les phospholipases, les protéases et les hémolysines, peuvent causer des dommages cellulaires, augmentant la sécrétion de fluide à partir des cryptes et contribuant ainsi à la diarrhée par sécrétion active et malabsorption. 6. Interaction avec le microbiote intestinal (modifié d'après Certad et al., 2017)

Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques et la sévérité de l'infection sont variables, et dépendent surtout de l'âge, de l'état immunitaire et de l'état nutritionnel du sujet ainsi que de la virulence des différents isolats du parasite (Certad et al., 2017). Le symptôme le plus répandu chez les personnes immunocompétentes est la diarrhée, habituellement volumineuse et aqueuse. Du mucus est parfois présent dans les selles. Les crampes abdominales, les nausées, les vomissements, la perte de poids, la fièvre et la fatigue peuvent occasionnellement être présents (Helmy et Hafez, 2022). Chez les personnes immunocompétentes, la maladie va être résolutive, sans aucun traitement spécifique avec une durée moyenne de 12 jours. Chez les patients immunodéprimés (malnutrition, infection par le VIH, cancer, etc.), la durée et la sévérité de la cryptosporidiose sont dépendant du niveau d'immunosuppression (Helmy et

Hafez, 2022). La cryptosporidiose, en tant que maladie opportuniste, se produit habituellement chez les patients présentant moins de 200 lymphocytes CD4+/mm³ (Navin et al., 1999). Chez ces patients immunodéprimés, les infections peuvent devenir chroniques tant que l'immunodépression est maintenue. La cryptosporidiose peut être létale à cause de la diarrhée qui va être caractérisée par des évacuations fréquentes, aqueuses et volumineuses conduisant à une déshydratation très importante. Dans certains cas, une dissémination de l'infection vers d'autres organes tels que le foie, la vésicule biliaire, le pancréas et l'arbre respiratoire est possible (Helmy et Hafez, 2022).

Les espèces les plus communément retrouvées chez l'homme sont *C. parvum* et *C. hominis* avec la diarrhée comme principale manifestation clinique. Cependant, des manifestations cliniques variées ont été décrites selon les espèces. Chez l'homme, il a été démontré que les différentes espèces et sous-types de *Cryptosporidium* entraînent des manifestations cliniques variées. Par exemple, *C. hominis* serait plus virulent que *C. parvum*, et les infections par *C. hominis* seraient davantage liées à des symptômes tels que des douleurs articulaires et oculaires, des migraines et de la fatigue sur tout à long terme (Lilja et al., 2018). D'autres espèces comme *C. canis* et *C. felis* semblent induire une infection plus sévère chez les personnes immunodéprimées. *C. meleagridis* serait quant à lui davantage responsable d'une infection asymptomatique et produirait moins d'excrétion d'oocystes (Chapell et al., 2011).

Des associations ont également été décrites entre différents génotypes et sous-types de *Cryptosporidium* et les manifestations cliniques (Cama et al., 2007 ; Cama et al., 2008). Par exemple, les infections par *C. hominis* sous-type Id, ou avec les espèces *C. parvum*, *C. canis* ou *C. felis* peuvent être plus sévères chez les personnes atteintes par le VIH/SIDA (Cama et al., 2007). Les ruminants, et en particulier les jeunes animaux infectés par *C. parvum* peuvent aussi souffrir de diarrhée aqueuse abondante, d'inappétence, de léthargie et de déshydratation et la mort peut survenir, en particulier chez les nouveau-nés (Robertson et al., 2020).

Traitement

Plusieurs médicaments ayant une activité anti-*Cryptosporidium in vitro* et *in vivo* tels que des macrolides, des dérivés de la rifamycine, du letrazuril, de la paromomycine, de la nitazoxanide et de la clofazimine, ont été testés dans le cadre d'essais cliniques. Cependant,

la plupart de ces traitements ont malheureusement montré une efficacité limitée (Khan et Witola, 2023).

Jusqu'à présent, la nitazoxanide est le seul médicament approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis pour le traitement de la cryptosporidiose chez les patients immunocompétents (Rossignol et al., 2006). L'efficacité du nitazoxanide (NTZ) a été démontrée à l'aide de plusieurs modèles animaux et dans le cadre d'essais cliniques. Il a été mis en évidence que ce médicament réduit sensiblement et de manière significative les manifestations cliniques, et en particulier, la durée de la diarrhée. Par contre, chez les patients immunodéprimés, il n'est efficace qu'en association à une réponse immunitaire appropriée (Rossignol et al., 2006). Dans une méta-analyse récente, il a été rapporté que la NTZ était significativement plus efficace qu'un placebo concernant la diminution des manifestations cliniques. Cependant, la comparaison de la NTZ au placebo n'a pas révélé de différences significatives concernant la diminution de l'excrétion de parasites dans les selles des patients infectés (Hashan et al., 2020).

D'autres médicaments ont été utilisés pour le traitement de la cryptosporidiose même sans être validés. L'azithromycine est un antibiotique macrolide dont l'association avec le NTZ a permis l'amélioration de la diarrhée chez un modèle animal de porcelets gnotobiotiques infectés par *C. hominis* mais sans succès pour inhiber l'excrétion des oocystes (Hashan et al., 2020). La paromomycine est un aminoglycoside oral qui se concentre dans la lumière intestinale mais son utilisation dans le traitement de la cryptosporidiose chez des patients atteints par le VIH n'a pas montré de réelle efficacité (Hashan et al., 2020). Des études récentes ont montré l'effet potentiel de l'immunothérapie dans le traitement de la cryptosporidiose (Khan et Witola, 2023). D'autres études ont testé les effets de bactéries probiotiques sans pouvoir éradiquer l'infection par *C. parvum* chez l'homme où l'animal (Khan et Witola, 2023). Enfin, des dérivés synthétisés de la NTZ se sont récemment révélés plus efficaces que la NTZ *in vitro* constituant une source d'espoir dans le traitement. Par contre, dans les formes graves, aucun médicament efficace n'est pour le moment disponible d'où la nécessité de développer des thérapies innovantes (Khan et Witola, 2023).

Objectifs

Comme mentionné dans l'introduction de ma thèse, j'ai participé à la rédaction d'une première revue portant sur les maladies tropicales négligées en Guinée (**Article 1**). Cette revue ne prenait que partiellement en compte les parasitoses intestinales à transmission principalement hydrique qui ont pourtant un impact majeur en santé publique en Guinée et qui représentent des sources importantes de morbidité, de mortalité et de malnutrition. En effet, les conditions sanitaires rencontrées et les problèmes d'alimentation en eau potable favorisent naturellement leur circulation et leur transmission, transformant ainsi certaines régions géographiques en réelles zones d'endémie. Malheureusement, la situation ne s'améliorera pas dans le futur avec le changement climatique, qui devrait augmenter les risques liés à l'eau et affecter les conditions environnementales, prédisposant les pays en développement aux maladies hydriques.

De ce fait, mon premier objectif a été de réaliser une étude de la prévalence des parasitoses intestinales en Guinée afin de dresser un portrait de leur prévalence globale dans mon pays et ceci à travers une revue systématique et une méta-analyse (**Article 2**). En parallèle, les données concernant l'impact potentiel des protozoaires intestinaux comme *Blastocystis* sp. et *Cryptosporidium* spp. étant quasi inexistantes, j'ai conduit, sur le terrain, les plus larges enquêtes épidémiologiques jamais menées en Guinée afin d'obtenir les premières valeurs de prévalence pour ces deux protozoaires tout en caractérisant sur un plan moléculaire les isolats présents par leur sous-typage (**Articles 3 et 4**). Ces données moléculaires permettent aussi de proposer des hypothèses concernant les potentiels modes de transmission de ces microorganismes qu'ils soient anthroponotique ou zoonotique.

Enfin, et en lien avec la fréquence observée pour *Blastocystis* sp. et ses potentielles interactions connues avec le microbiote intestinal humain, j'ai souhaité analyser ces interactions chez des individus guinéens (**Article 5 en préparation**).

Résultats

Article 2 : Timothé Guilavogui, Stéphane Verdun, Akoï Koïvogui, Eric Viscogliosi and Gabriela Certad. Prevalence of Intestinal Parasitosis in Guinea: Systematic Review of the Literature and Meta-Analysis. Pathogens 2023, 12, 336

Résumé

Contexte : Les parasitoses intestinales constituent un problème majeur de santé publique, en particulier dans les zones subtropicales et tropicales. Bien qu'elles soient classées parmi les maladies tropicales négligées, aucune étude nationale n'a été récemment menée en Guinée pour estimer la prévalence des parasitoses intestinales. Objectif : Une revue systématique et une méta-analyse ont été réalisées afin de déterminer la prévalence globale des parasitoses intestinales en Guinée. Méthode : La méthode PRISMA a été utilisée pour effectuer une revue systématique et une méta-analyse. Les études menées pour examiner les parasitoses intestinales en Guinée et publiées entre 2010 et 2020 ont été recherchées dans les bases de données publiques en ligne. La prévalence des parasitoses a été calculée par une méta-analyse à effets aléatoires. Des comparaisons entre sous-groupes ont été effectuées à l'aide de tests Q. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R. Cette revue a été enregistrée sur PROSPERO sous le numéro d'identification CRD42022349743. Résultats : 69 études ont été sélectionnées parmi les 1230 études identifiées dans les bases de données publiques en ligne. La méta-analyse a porté sur 44 186 personnes avec une prévalence globale des infections parasitaires intestinales de 52 %. Conclusions : Il s'agit de la première étude en Guinée à évaluer la prévalence des infections parasitaires intestinales dans différentes régions du pays. Il a été constaté que les parasitoses intestinales constituent un réel problème de santé en Guinée, d'où la nécessité de mettre en place des stratégies nationales de contrôle régulier.

Ma contribution dans cette étude

- Participation à la mise en place de cette étude
- Enregistrement et analyse des données
- Participation à la rédaction de l'article

Prevalence of Intestinal Parasitosis in Guinea: Systematic Review of the Literature and Meta-Analysis

Timothé Guilavogui^{1,2}, Stéphane Verdun³, Akoï Koïvogui⁴, Eric Viscogliosi¹ and Gabriela Certad^{1,3*}

¹Centre National de la Recherche Scientifique, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-UMR 9017-Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Université de Lille, 59000 Lille, France

²Unité d'Appui à la Gestion et la Coordination des Programmes, Ministère de la Santé, Conakry 585, Guinée

³Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation, Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille, 59000 Lille, France

⁴Comité Départemental des Cancers (CDC-93), CRCDC-IDF, Site de Seine-Saint-Denis, 93146 Bondy, France

*Author to whom correspondence should be addressed.

Abstract

Background: Intestinal parasitosis constitutes a major public health issue, particularly in sub-tropical and tropical areas. Even though they are classified as neglected tropical diseases, no national study has been carried out recently in Guinea to estimate the prevalence of intestinal parasitosis. Objective: A systematic review and meta-analysis aimed to determine the overall prevalence of intestinal parasitosis in Guinea. Method: The PRISMA method was used to perform a systematic review and meta-analysis. The studies carried out in order to study intestinal parasitosis in Guinea and published between 2010 and 2020 were searched in online public databases. The prevalence of parasitosis was calculated by a random-effects meta-analysis. Subgroup comparisons were performed using Q-tests. Statistical analyses were performed with the R software. This review was registered with PROSPERO under the identification number CRD42022349743. Results: 69 studies were selected out of 1230 studies identified in online public databases. The meta-analysis involved 44,186 people with an overall prevalence of intestinal parasitic infections of 52%. Conclusions: This is the first study in Guinea to assess the prevalence of intestinal parasitic infections in different regions of the country. It was found that intestinal parasitosis are a real health problem in Guinea, hence, the need to put in place national strategies for regular control.

Keywords: intestinal parasitosis; meta-analysis; systematic review; prevalence; Guinea

1. Introduction

Intestinal parasitic infections are widespread in the world, with school-aged children being the most affected, with prevalences in some geographic areas of more than 50% [1]. According to the World Health Organization (WHO), in the world, more than 1.5 billion people are infected by intestinal parasites, and 450 million are seriously ill, with an estimated mortality rate of 155,000 cases per year [2]. The promiscuity and lack of hygiene associated with poverty favor their expansion. In some regions of the world, particularly in sub-tropical and tropical areas, intestinal parasitic infections are endemic and remain one of the leading causes of increased morbidity and mortality, justifying the mobilization of resources and actions aimed at their control and eradication [3,4]. Developing countries are the most affected by intestinal parasitic infections, particularly in areas such as sub-Saharan Africa, South and Central America, China, and East Asia [1,5]. This situation constitutes an obstacle to socio-economic development [6]. Intestinal parasitic infections are caused by both helminths and protozoans. Soil-transmitted helminths include, among others, *Ascaris lumbricoides*, responsible for ascariasis; *Ancylostoma duodenale*, responsible for hookworm infection; and *Trichuris trichiura*, responsible for trichocephalosis [5]. Among the water-transmitted helminths, *Schistosoma mansoni*, responsible for schistosomiasis, is one of the most important blood flukes in Africa [6,7]. The main modes of contamination by these parasites are the eggs present in the stools of infected people or the larvae. Adult worms, which are located in the gut of an infected person, can produce thousands of eggs every day, contaminating environments that lack adequate sanitation [8,9]. Among the most important intestinal protozoans are *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Blastocystis*, and *Cryptosporidium* spp. [10]. The latter, in some cases, can be the cause of serious gastrointestinal infections resulting in high morbidity and mortality, particularly in children and immunocompromised patients [11]. Despite their health impact, these parasites remain neglected by health authorities, even though most of the diseases they cause have been categorized as neglected tropical diseases (NTDs) [1,2].

In Africa, it is difficult to have reliable epidemiological data concerning parasitic intestinal infections due mainly to the underreporting of cases. However, some studies describe a high prevalence of intestinal parasitosis, even if this prevalence is variable from one region to

another. For instance, 84.7% of intestinal parasitosis have been reported in Burkina Faso [12], 15.8% in Senegal [13], and 55.2% in Côte d'Ivoire [14]. It is important to mention that in sub-Saharan countries such as Ethiopia, a prevalence of intestinal parasitic infection greater than or equal to 50% is classified as high [15]. Particularly, in Guinea, according to the prevalence of geo-helminthiasis, the health districts have been classified as hyper-endemic (50% of prevalence or more), meso-endemic (20–49% of prevalence), and hypo-endemic (less than 20% of prevalence) [16].

A national survey performed in Guinea in 1995 reported a 70% prevalence of geo-helminthiasis in school-aged children in the four natural regions of the country: Lower Guinea, Middle Guinea, Upper Guinea, and Forest Guinea [4]. Nevertheless, to our knowledge, no national study has been carried out to estimate the prevalence of intestinal parasitosis or even to assess its impact on the health of the population since then.

Guinea launched a national health policy (NHP) in 1996 [17]. Dysfunctions in the system were noticed, and the Ministry of Health organized a review of the health system in 2000. This review recommended the development of the new NHP together with a National Health Development Plan (NHDP) by 2010 [16]. In order to eradicate intestinal parasitosis in Guinea, the National Program to Control Neglected Tropical Diseases (NPCNTD) was set up in 2010 as part of the first NHDP, before being attached to the National Directorate of Major Endemics and Illness Control in 2018. To intensify the fight against NTDs initiated in 2010, this NPCNTD implemented several community actions. Efforts were mainly focused on the control of chemo-preventive diseases (onchocerciasis, lymphatic filariasis, trachoma, schistosomiasis, and geo-helminthiasis) and those requiring curative treatment (leprosy, Human African Trypanosomiasis, and Buruli ulcer). Specifically, since 2014, mass treatment for geo-helminthiasis has been integrated with treatment for lymphatic filariasis and onchocerciasis. Then the health districts endemic to geo-helminthiasis benefited progressively from albendazole treatments for populations aged 5 years and older [16] (Table 1). Parasitosis due to protists such as *Cryptosporidium* was not included in the fight against NTDs. However, in 2017, according to the health statistics yearbook of the Ministry of Health, the annual incidence rate of intestinal helminthiasis was estimated at 26 per 1000 habitants, ranking it behind malaria and respiratory infections [16].

Table 1. Description of different periods according to the National Program to Control Neglected Tropical Diseases.

	Target Population	Prevention Deworming Program	Frequency of Preventive Deworming	Administered Drugs (Doses)
Before 2010	No	No specific program	NA	Praziquatel (600 mg), Mebendazol (500 mg)
2010–2013	Children between 5 and 12 years old assisting school and adults	One-time programs	Not periodically	Praziquatel (600 mg), Albendazole (400 mg) or Mebendazol (500 mg)
After 2014	Populations aged 5 years and older	Mass treatment integrated in campaigns for lymphatic filariasis and onchocerciasis	Once a year	Praziquatel (600 mg), Albendazole (400 mg) or Mebendazol (500 mg)

NA: non-applicable; mg: milligram. Data from [16].

In the absence of recent national epidemiological studies in the field evaluating the evolution of the prevalence of intestinal parasitosis in the country, it seems necessary to perform a situational analysis before planning new studies and strategies to control NTDs, in particular intestinal parasitosis. Thus, the aim of this study was to undertake a systematic review and meta-analysis to evaluate and describe the research estimating the prevalence of intestinal parasitosis in Guinea in order to synthesize the data, describe the evolution of the prevalence, and identify the existing gaps as well as future research priorities.

2. Methods

2.1. Documentary Search Strategy

A systematic review of the literature and a meta-analysis were carried out using the Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis (PRISMA) method [18]. We searched in the PubMed/Medline, Google Scholar, and ResearchGate databases (for peer-reviewed journal articles) and in the Library of Gamal Abdel Nasser University (UGAN) in Conakry (for dissertations or theses of graduate students in the departments of medicine, pharmacy, and biomedical sciences) to compile all the studies carried out on intestinal parasitosis in Guinea and published between 2010 and 2020. Two reasons motivated the choice of this period: (i) Theses prior to 2010 were not accessible in the database of the Library of Gamal Abdel Nasser University in Conakry, and although the search was done in a digital catalog, only the papers formats of these dissertations were accessible in the library of the UGAN.; (ii) The National NTD Control Program, which defines national strategic guidelines, began after 2010.

For the documentary search in each database, the keyword pair “Guinea” and “Intestinal parasitosis” was initially used. Then, in a second step, the keyword “Guinea” was used in association with each intestinal parasite or parasitic infection (i.e., “Guinea & *A. duodenale*” or “Guinea & Ancylostomiasis”...). The exhaustive list of the parasites sought was: Hookworms (*A. duodenale* and *Necator americanus*), Eel (*Strongyloides stercoralis*), *A. lumbricoides*, Whipworm (*T. trichiura*), Pinworm (*E. vermicularis*), Trichina (*Trichinella spiralis*), *S. mansoni* (*S. mansoni*, *S. intercalatum*, *S. japonicum* and *S. mekongi*), Tapeworms (*Taenia saginata*, and *Taenia solium*, *Hymenolepis diminuta*, *Hymenolepis nana*), *Trichomonas intestinalis*, *Balantidium coli*, *Cryptosporidium*, *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*, *Blastocystis*, *Cystoisospora belli*, *Isoospora belli*, *Entamoeba histolytica*, *Fasciolopsis buski*, *G. intestinalis*, (formerly called *Giardia lamblia*, *Giardia duodenalis*, and *Lamblia duodenalis*).

2.2. Study Selection Criteria

Criteria were established for eligibility before beginning the search, as follows:

Inclusion criteria:

- Language of publication/written: English or French
- Year of publication/report: from 2010 until 2020
- Study design: observational studies (cross-sectional, case-control, cohort).
- Outcome: prevalence of intestinal parasites and/or associated factors
- Study population: not restriction
- Study setting: at institution or community based
- Study country: Guinea
- Diagnostic modality: stool examination
- Type of parasite: either protozoa or helminths or both
- Types of articles: both published and unpublished including dissertations or theses accessible in the database of the UGAN in Conakry.
- Types of publication: peer-reviewed full-text articles.
- Exclusion criteria:
 - Publications dating before 2010
 - Publications reporting prevalence after antiparasitic treatment.
 - Duplicates articles

- Dissertations of graduate students deposited in university libraries in Conakry before 2010
- Articles and dissertations on intestinal parasitosis carried out outside Guinea
- Articles that failed to report the number of study participants and number of cases

2.3. Search Strategy

The articles and theses/dissertations selected were read and analyzed in accordance with a reading grid, and the extracted data included: (i) name of authors; (ii) diploma obtained as a result of the study in the case of theses/dissertations (MD: medical doctor; PharmD: pharmacy doctor; master or MSc: master in sciences), and the reference number of the study; (iii) year of publication (year of publication by the editor or year of submission of the thesis to the university library); (iv) year of observation (period of beginning of inclusions or selection of the study population); (v) age range of the study population (according to age, the study population was divided into 5 groups: children between 0 and 5 years old, children between 0 and 17 years old, adults, mixed population (children and adults), and pregnant women); (vi) study setting; (vii) study site (area corresponding to the place of residence of the population included in the study. For the analysis of the study site, the districts were grouped by natural regions (Conakry, Lower Guinea, Middle Guinea, Upper Guinea, and Forest Guinea). Conakry was distinguished from Lower Guinea to highlight its cosmopolitan character and the fact that it was the only city in the country with an institute of medicine and pharmacy, since independence until 2006. Lower Guinea (20% of the area), is a maritime region characterized by high rainfall; Middle Guinea (18%) is a region of mountains and many rivers, Upper Guinea (22%) is the driest region in the country, Forest Guinea (40%) has a humid subtropical climate [16]; (viii) type of laboratory techniques: standard direct microscopic examination, direct microscopic examination after special stains and the concentration or staining/discoloration techniques performed (formol-ether, Kato–Katz, Willis, Ziehl –Neelsen) were listed; (ix) overall prevalence (any parasite); (x) type of parasites and the number of cases observed.

The prevalence of each of the most frequent parasitosis in the literature was retrieved over three periods: before 2010 (Period 1 (P1)), between 2010 and 2013 (Period 2 (P2)), and from 2014 to 2020 (Period 3 (P3)). These periods were chosen considering the application of the NHDP policy (Table 1).

2.4. Data Extraction

Studies were screened independently by two authors, first based on titles and abstracts. The full texts of papers identified as being potentially relevant for inclusion were retrieved and independently assessed by the same collaborators. Data extraction format for the pooled prevalence was facilitated using a Microsoft Excel sheet where data pertaining to the authors' names, publication year, study design, study setting, study area, region, technique of stool examination, sample size, and prevalence of intestinal parasitic infection were listed.

2.5. Statistical Analysis

The prevalence of parasitosis was calculated by a random-effects meta-analysis (heterogeneity between studies was expected). A logistic regression model with random intercept was used to estimate prevalence, with logit transformation. Confidence intervals of the estimates for each study were calculated with the Clopper–Pearson method (exact binomial interval). Subgroup comparisons were performed using Q-tests. The general significance level was set at a p-value below 0.05. Statistical analyses were performed with the R software version 4.0.5 [19]. The R code used for the analysis and the database were added as Supplementary File S1.

2.6. Protocols and Registration

This systematic review and meta-analysis were registered on PROSPERO under the registration number CRD42022349743 and can be accessed at <https://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO> (accessed on 28 July 2022).

3. Results

Characteristics of the Included Articles

A total of 1230 studies were initially identified in the queried databases. Overall, 1128 studies were excluded during the first selection phase according to the following reasons: exclusion of articles published before 2010, dissertations or theses submitted at the library before 2010, publications not related to intestinal parasitosis, and duplicates. Out of the 102 publications or documents, after a second selection phase, 69 studies met the study criteria (Figure 1).

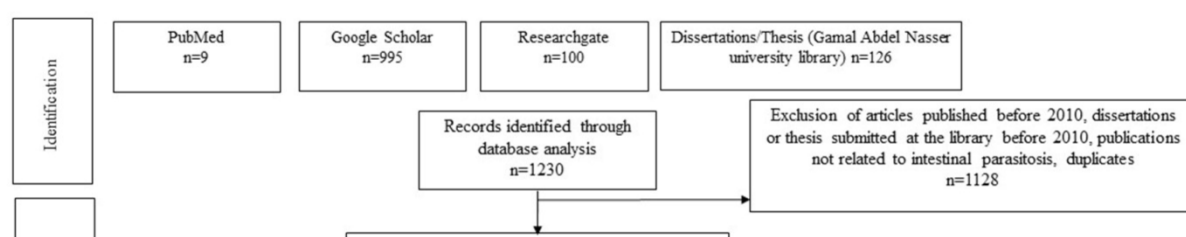


Figure 1. PRISMA chart flow showing article selection process.

In total, 100% of selected studies were cross-sectional, and 68% described the frequency of intestinal parasitosis in people consulting a health care structure; 32% were performed in institutions such as schools, orphanages, universities, or jails. Parasitological examination techniques were not described in 10 studies. In the remaining 59 studies, a microscopic examination of fresh stools was performed, as this is the most commonly used laboratory test for stool sample analysis. This standard examination was followed by a modified Ziehl–Neelsen staining technique in only two studies or by the Kato–Katz technique in ten studies (Table 2).

Table 2. Characteristics of the selected studies included in the systematic review and meta-analysis.

Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
1	Adult and children (1–17 years)	2006	Conakry (Urban)	Hospital	800 (23)	<i>S. stercoralis</i> (4), <i>A. duodenale</i> (42), <i>A. lumbricoides</i> (40), <i>E. histolytica</i> (27), <i>E. vermicularis</i> (3), <i>S. mansoni</i> (6), Tapeworm (11), Trichine (32), <i>T. intestinalis</i> (21)	A, D	Touré N., 2010, PharmD [20]
2	Children (1–17 years)	2008–2009	Conakry (Urban)	School	306 (43)	<i>S. stercoralis</i> (11), <i>A. duodenale</i> (24), <i>A. lumbricoides</i> (37), <i>E. histolytica</i> (21), <i>E. vermicularis</i> (3), <i>S. mansoni</i> (1), Tapeworm (6), Trichine (20), <i>T. intestinalis</i> (9)	A, D	Diallo G., 2010, PharmD [21]
3	Adult and children (1–17 years)	2009	Conakry (Urban)	Hospital	420 (42)	<i>S. stercoralis</i> (11), <i>A. duodenale</i> (41), <i>A. lumbricoides</i> (102), <i>S. mansoni</i> (8), Tapeworm (6), <i>T. trichiura</i> (7)	A, D	Assoumani M., 2010, PharmD [22]
4	Children (6–14 years)	2010	Lower Guinea (Kindia, Urban)	Community	612 (66)	<i>S. stercoralis</i> (9), <i>A. duodenale</i> (89), <i>A. lumbricoides</i> (113), <i>E. histolytica</i> (22), <i>E. vermicularis</i> (2), <i>S. mansoni</i> (86), Tapeworm (20), <i>T. trichiura</i> (12), <i>T. intestinalis</i> (48)	A, D	Camara A.B., 2010, PharmD [23]
5	Children (0–5 years)	2007	Conakry (Urban)	School	254 (80)	<i>S. stercoralis</i> (1), <i>A. duodenale</i> (23), <i>A. lumbricoides</i> (127), <i>E. histolytica</i> (7), <i>S. mansoni</i> (9), <i>T. trichiura</i> (26), <i>T. intestinalis</i> (9)	A, D	Diallo S.M.C., 2011, PharmD [24]
6	Children (5–17 years)	2008	Conakry (Urban)	School	300 (46)	<i>S. stercoralis</i> (2), <i>A. duodenale</i> (5), <i>A. lumbricoides</i> (104), <i>E. histolytica</i> (4), <i>H. nana</i> (3), <i>S. mansoni</i> (5), Tapeworm (3), <i>T. trichiura</i> (2), <i>T. intestinalis</i> (10)	A, D	Kolić F., 2011, PharmD [25]
7	Adults and children (1–17 years)	2008	Conakry (Urban)	Hospital	703 (87)	<i>S. stercoralis</i> (13), <i>A. duodenale</i> (73), <i>A. lumbricoides</i> (207), <i>E. histolytica</i> (105), <i>E. vermicularis</i> (58)	A, D	Koné M.C., 2011, PharmD [26]

Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
8	Adults and children (1–17 years)	2009	Conakry (Urban)	Hospital	300 (37)	<i>S. stercoralis</i> (5), <i>A. duodenale</i> (6), <i>A. lumbricoides</i> (32), <i>E. histolytica</i> (21), <i>E. vermicularis</i> (5), <i>H. nana</i> (5), <i>S. mansoni</i> (7), Tapeworm (26), <i>T. trichiura</i> (4)	A, D	Diallo A.A., 2011, PharmD [27]
9	Adults and children (1–17 years)	2009	Conakry (Urban)	Hospital	716 (47)	<i>S. stercoralis</i> (6), <i>A. duodenale</i> (8), <i>A. lumbricoides</i> (218), <i>E. histolytica</i> (58), <i>E. vermicularis</i> (1), <i>S. mansoni</i> (5), Tapeworm (39), <i>T. trichiura</i> (1), <i>T. intestinalis</i> (1)	A, D	Simpogui F.T., 2011, PharmD [28]
10	Children (2–17 years)	2009	Conakry (Urban)	Orphanat	99 (43)	<i>A. lumbricoides</i> (38), <i>S. mansoni</i> (1), Tapeworm (4)	A, D	Tidjani A., 2011, PharmD [29]
11	Children (9–14 years)	2010	Forest Guinea (Beyla and Macenta, Mixed)	School or community	420 (80)	<i>A. duodenale</i> (101), <i>A. lumbricoides</i> (34), <i>S. mansoni</i> (278), <i>T. trichiura</i> (10)	A, C	Hodges et al., 2011 [30]
12	Pregnant women	2011	Conakry (Urban)	Hospital	186 (47)	<i>A. duodenale</i> (10), <i>A. lumbricoides</i> (3), <i>E. histolytica</i> (4), <i>E. vermicularis</i> (5), <i>S. mansoni</i> (48), Tapeworm (8), <i>T. trichiura</i> (6), <i>T. intestinalis</i> (3)	A, D	Bilivogui F.C., 2011, PharmD [31]
13	Adults and children (1–17 years)	2010	Conakry and Lower Guinea (Kindia, Urban)	Community	4717 (42)	<i>S. stercoralis</i> (87), <i>A. duodenale</i> (556), <i>A. lumbricoides</i> (519), <i>E. vermicularis</i> (26), <i>S. mansoni</i> (242), Tapeworm (242), <i>T. trichiura</i> (303)	A, D	Barry A.R., 2012, PharmD [32]
14	Adults and children (0–15 years)	2010	Forest Guinea (N'Zérékoré, Urban)	Hospital	452 (39)	<i>S. stercoralis</i> (12), <i>S. mansoni</i> (165)	A, C	Kolié L., 2012, PharmD [33]
15	Pregnant women	2011	Conakry (Urban)	Hospital	121 (59)	<i>S. stercoralis</i> (12), <i>A. duodenale</i> (5), <i>A. lumbricoides</i> (29), <i>E. histolytica</i> (11), <i>S. mansoni</i> (3), Tapeworm (5), <i>T. intestinalis</i> (6)	A, D	Housanou E.I.D., 2012, PharmD [34]

Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
16	Children (0–5 years)	2012	Middle Guinea (Mamou, Mixed)	Hospital	208 (46)	<i>S. stercoralis</i> (15), <i>A. lumbricoides</i> (41), <i>E. histolytica</i> (1), <i>E. vermicularis</i> (8), <i>G. intestinalis</i> (17), <i>S. mansoni</i> (1), <i>T. trichiura</i> (7), <i>T. intestinalis</i> (6)	X	Camara A.M., 2012, MD [35]
17	Adult and children (1–17 years)	2012	Forest Guinea (Macenta, Mixed)	Community	515 (100)	<i>A. duodenale</i> (156), <i>A. lumbricoides</i> (124), <i>E. vermicularis</i> (12), <i>S. mansoni</i> (203), Tapeworm (10), Trichine (10)	A, D	Bilivogui A., 2013, PharmD [36]
18	Adults	2012	Conakry (Urban)	University	117 (68)	<i>A. duodenale</i> (1), <i>A. lumbricoides</i> (66), <i>E. vermicularis</i> (1), <i>H. nana</i> (1), Tapeworm (10)	A, D	Béavogui O.K., 2013, PharmD [37]
19	Pregnant women (15–17 years)	2012	Conakry (Urban)	Hospital	1975 (50)	<i>S. stercoralis</i> (139), <i>A. duodenale</i> (159), <i>A. lumbricoides</i> (199), <i>E. histolytica</i> (70), <i>E. vermicularis</i> (90), <i>S. mansoni</i> (50), Tapeworm (109), <i>T. trichiura</i> (179)	X	Condé M., 2013, PharmD [38]
20	Adults and children (0–17 years)	2012	Conakry (Urban)	Community	714 (53)	<i>S. stercoralis</i> (6), <i>A. duodenale</i> (35), <i>A. lumbricoides</i> (180), <i>E. vermicularis</i> (10), <i>F. buski</i> (50), <i>H. nana</i> (30), <i>T. trichiura</i> (70)	A, D	Kéita D., 2013, PharmD [39]
21	Children (1–17 years)	2012	Forest Guinea (Beyla, Mixed)	Community	779 (46)	<i>A. duodenale</i> (53), <i>A. lumbricoides</i> (24), <i>S. mansoni</i> (273), Tapeworm (7), Trichine (2)	A, D	Pricemou P., 2013, PharmD [40]
22	Pregnant women	2012	Conakry (Conakry, Urban)	Hospital	1488 (66)	<i>S. stercoralis</i> (93), <i>A. duodenale</i> (103), <i>A. lumbricoides</i> (165), <i>E. histolytica</i> (203), <i>E. vermicularis</i> (133), <i>S. mansoni</i> (145), Tapeworm (57), <i>T. intestinalis</i> (83)	A, B, D	Sow S., 2013, PharmD [41]

Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
23	Adults and children (1–17 years)	2012	Conakry (Urban)	Hospital	3705 (27)	Helminths (1000)	X	Touré F., 2013, PharmD [42]
24	Children (1–17 years)	1989	Upper Guinea (Siguiri, Mixed)	Community	1532 (70)	<i>S. stercoralis</i> (66), <i>A. duodenale</i> (298), <i>A. lumbricoides</i> (200), <i>E. histolytica</i> (65), <i>G. intestinalis</i> (6), <i>H. nana</i> (62), <i>S. mansoni</i> (119), Tapeworm (147), Trichine (113)	A, C, D	Diaby K., 2014, PharmD [43]
25	Adults and children (1–17 years)	2012	Forest Guinea (Macenta, Mixed)	Community	425 (52)	<i>A. duodenale</i> (74), <i>A. lumbricoides</i> (53), <i>E. histolytica</i> (11), <i>E. vermicularis</i> (8), <i>S. mansoni</i> (66), Tapeworm (5), Trichine (2)	A, D	Guilavogui D., 2014, PharmD [44]
26	Malnourished children (0–5 years)	2013	Forest Guinea (N'Zérékoré, Urban)	Hospital	62 (74)	<i>S. stercoralis</i> (1), <i>A. duodenale</i> (9), <i>A. lumbricoides</i> (15), <i>E. histolytica</i> (5), <i>E. vermicularis</i> (4), <i>G. intestinalis</i> (4), <i>S. mansoni</i> (5), Tapeworm (3)	A, D	Koivogui E., 2014, MD [45]
27	Children (0–5 years)	2013	Forest Guinea (N'Zérékoré, Urban)	Hospital	400 (51)	<i>A. duodenale</i> (60), <i>A. lumbricoides</i> (66), <i>S. mansoni</i> (39), Tapeworm (6), <i>T. trichiura</i> (12), <i>T. intestinalis</i> (22)	A, D	Lamah L.S., 2014, PharmD [46]
28	Children (1–17 years)	2013	Conakry (Urban)	School	200 (34)	<i>A. duodenale</i> (14), <i>A. lumbricoides</i> (18), <i>H. nana</i> (10), <i>T. trichiura</i> (6), <i>T. intestinalis</i> (20)	A, D	Sano F., 2015, PharmD [47]
29	Pregnant women (1–17 years)	2014	Upper Guinea (Siguiri, Mixed)	Hospital	975 (70)	<i>S. stercoralis</i> (110), <i>A. duodenale</i> (128), <i>A. lumbricoides</i> (163),	X	Camara M.S., 2015, PharmD [48]

Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
30	Pregnant women	2014	Forest Guinea (N'Zérékoré, Mixed)	Hospital	780 (100)	<i>S. stercoralis</i> (126), <i>A. duodenale</i> (144), <i>A. lumbricoides</i> (156), <i>S. mansoni</i> (179), Tapeworm (71), <i>T. trichiura</i> (96), <i>T. intestinalis</i> (8)	A, D	Diabaté M., 2015, PharmD [49]
31	Adults and children VIH and TB (16–17 years)	2014	Conakry (Urban)	Hospital	123 (76)	<i>S. stercoralis</i> (1), <i>A. duodenale</i> (8), <i>A. lumbricoides</i> (44), <i>Cryptosporidium</i> (34), <i>E. vermicularis</i> (3), <i>G. intestinalis</i> (1), <i>H. nana</i> (1), <i>I. belli</i> (1), <i>S. mansoni</i> (1)	A, D, E	Cbamou R.N., 2015, PharmD [50]
32	Pregnant women (13–17 years)	2014	Lower Guinea (Kindia, Urban)	Hospital	200 (50)	<i>S. stercoralis</i> (10), <i>A. duodenale</i> (13), <i>A. lumbricoides</i> (36), <i>E. histolytica</i> (10), <i>S. mansoni</i> (9), Tapeworm (10), <i>T. trichiura</i> (12)	A	Hamza S.A., 2015, MSc [51]
33	Children (3–17 years)	2014	Conakry (Urban)	Hospital	780 (82)	<i>S. stercoralis</i> (7), <i>A. duodenale</i> (13), <i>A. lumbricoides</i> (390), <i>E. vermicularis</i> (7), <i>H. nana</i> (52), <i>S. mansoni</i> (20), Tapeworm (13), <i>T. trichiura</i> (138)	A, F	Moutsinga M.L.A., 2015, MSc [52]
34	Children (0–5 years)	2014	Forest Guinea (Macenta, Mixed)	Hospital	300 (41)	<i>S. stercoralis</i> (3), <i>A. duodenale</i> (22), <i>A. lumbricoides</i> (7), <i>E. histolytica</i> (32), <i>S. mansoni</i> (10), Tapeworm (23), <i>T. trichiura</i> (11), <i>T. intestinalis</i> (15)	A, B	Zoumanigui W., 2015, PharmD [53]
35	Children (1–17 years)	2015	Middle Guinea (Dalaba, Mixed)	School	430 (50)	<i>S. stercoralis</i> (19), <i>A. duodenale</i> (5), <i>A. lumbricoides</i> (34), <i>S. mansoni</i> (69), Tapeworm (84), <i>T. trichiura</i> (2)	A, D	Bah M.S., 2016, PharmD [54]
36	Children (0–15 years)	2015	Forest Guinea (Guéckedou,	Hospital	820 (31)	<i>A. duodenale</i> (26), <i>A. lumbricoides</i> (156), <i>S. mansoni</i> (64),	X	Sylla I.M., 2016, MD [55]

Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
37	Adults and children (1–17 years)	2015–2016	Conakry (Urban)	Hospital	407 (76)	<i>S. stercoralis</i> (53), <i>A. duodenale</i> (40), <i>A. lumbricoïdes</i> (62), <i>S. mansoni</i> (47), Tapeworm (62), <i>T. trichiura</i> (47)	A	Camara A.K., 2016, MSc [56]
38	Children (5–15 years)	2017	Middle Guinea (Labé, Urban)	Hospital	372 (55)	<i>S. stercoralis</i> (5), <i>A. lumbricoïdes</i> (112), <i>S. mansoni</i> (11), Tapeworm (75)	A, B, D	Diallo L.B., 2016, PharmD [57]
39	Adults and children (1–17 years)	2016	Middle Guinea (Labé, Urban)	Hospital	454 (41)	<i>A. duodenale</i> (12), <i>A. lumbricoïdes</i> (105), <i>E. histolytica</i> (6), <i>E. vermicularis</i> (4), <i>S. mansoni</i> (10), Tapeworm (46), <i>T. trichiura</i> (3)	A	Baldé A.S., 2017, MSc [58]
40	Pregnant women	2016	Conakry (Urban)	Hospital	384 (26)	<i>S. stercoralis</i> (2), <i>A. duodenale</i> (11), <i>A. lumbricoïdes</i> (59), <i>B. coli</i> (1), <i>E. histolytica</i> (1), <i>S. mansoni</i> (7), Tapeworm (15), Trichine (3), <i>T. intestinalis</i> (1)	A, D	Fotio C.S., 2017, PharmD [59]
41	Children (1–17 years)	2016	Conakry (Urban)	School	322 (43)	<i>S. stercoralis</i> (3), <i>A. duodenale</i> (5), <i>A. lumbricoïdes</i> (62), <i>E. vermicularis</i> (19), <i>S. mansoni</i> (7), Tapeworm (22), <i>T. trichiura</i> (21), Helminths (79)	A, D	Kouyaté M., 2017, PharmD [60]
42	Children (0–15 years)	2016	Forest Guinea (N'Zérékoré, Mixed)	Hospital	504 (16)		X	Loua C., 2017, PharmD [61]
43	Children (0–5 years)	2017	Conakry (Urban)	Hospital	211 (27)	<i>A. duodenale</i> (6), <i>A. lumbricoïdes</i> (25), <i>E. histolytica</i> (9), <i>S. mansoni</i> (1), Tapeworm (11), <i>T. intestinalis</i> (5)	A, D	Kengni M.O., 2017, PharmD [62]
44	Adults and children (1–17 years)	2017	Conakry (Urban)	Hospital	354 (11)	<i>S. stercoralis</i> (2), <i>A. lumbricoïdes</i> (7), <i>E. histolytica</i> (7), <i>E. vermicularis</i> (1), <i>S. mansoni</i> (11), Tapeworm (9), <i>T. trichiura</i> (1)	A, B, D	Loua B., 2017, PharmD [63]
Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
45	Children (0–5 years)	2017	Forest Guinea (Lola, Urban)	Hospital	160 (32)	<i>A. lumbricoïdes</i> (33), <i>E. histolytica</i> (15), Tapeworm (3)	A	Sagno I., 2017 MD [54]
46	Malnourished children (0–3 years)	2015	Conakry (Urban)	Hospital	220 (27)	<i>A. lumbricoïdes</i> (33), <i>B. coli</i> (11), <i>E. vermicularis</i> (13), Tapeworm (2)	A, D	Sidibe S et al., 2018 [3]
47	Pregnant women (16–42 years)	2016	Conakry (Urban)	Hospital	3571 (11)	<i>S. stercoralis</i> (27), <i>A. duodenale</i> (28), <i>A. lumbricoïdes</i> (91), <i>E. histolytica</i> (125), <i>E. vermicularis</i> (36), <i>S. mansoni</i> (29), Tapeworm (34), <i>T. trichiura</i> (23), <i>S. mansoni</i> (52)	X	Aberaman B, 2018, PharmD [65]
48	Adults and children (1–17 years)	2016	Lower Guinea (Kindia, Urban)	Community	152 (34)		A, C	Bah O., 2018 Master [66]
49	Adults and children (1–17 years)	2016	Lower Guinea (Kindia, Mixed)	Community	477 (53)	<i>S. stercoralis</i> (5), <i>A. duodenale</i> (65), <i>A. lumbricoïdes</i> (181), <i>T. trichiura</i> (1)	A, C, D	Camara L.M., 2018, Master [67]
50	Human immunodeficiency virus (HIV) + adults and children (5–17 years)	2016	Conakry (Urban)	Hospital	38 (24)	<i>S. stercoralis</i> (1), <i>A. duodenale</i> (1), <i>E. histolytica</i> (3), <i>G. intestinalis</i> (1), <i>S. mansoni</i> (1), <i>T. intestinalis</i> (2)	X	Camara N., 2018, MD [68]
51	Children (3–5 years)	2016	Conakry (Urban)	Hospital	238 (29)	<i>S. stercoralis</i> (3), <i>A. duodenale</i> (4), <i>A. lumbricoïdes</i> (27), <i>E. histolytica</i> (13), <i>E. vermicularis</i> (10), <i>G. intestinalis</i> (6), Tapeworm (3), <i>T. trichiura</i> (3)	A, D	Guilavogui E., 2018, PharmD [69]
52	Children (0–15 years)	2016–2017	Forest Guinea (Kissidougou, Urban)	Hospital	265 (25)	<i>A. duodenale</i> (48), <i>E. histolytica</i> (9), <i>S. mansoni</i> (10)	A, F	Oularé M.L., 2018, MD [70]
Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
53	Children (2–14 years)	2017	Conakry (Urban)	Hospital	384 (25)	<i>S. stercoralis</i> (5), <i>A. lumbricoïdes</i> (6), <i>H. diminuta</i> (13), <i>H. nana</i> (24), <i>S. mansoni</i> (15), Tapeworm (23), <i>T. trichiura</i> (11)	A, B, D	Ali I.O., 2018, PharmD [71]
54	Adults and children (1–17 years)	2017	Lower Guinea (Kamsar, Mixed)	Community	364 (42)	<i>S. stercoralis</i> (10), <i>A. duodenale</i> (19), <i>A. lumbricoïdes</i> (64), <i>E. vermicularis</i> (9), <i>S. mansoni</i> (11), Tapeworm (26), Trichine (12)	A, D	Bamba P., 2018, PharmD [72]
55	Children (0–5 years)	2017	Conakry (Urban)	Hospital	291 (25)	<i>A. lumbricoïdes</i> (36), <i>E. histolytica</i> (32), Tapeworm (4)	A	Camara O., 2018, MD [73]
56	Adults and children (5–17 years)	2017	Upper Guinea (Kankan, Urban)	Hospital	340 (86)	<i>S. stercoralis</i> (1), <i>A. duodenale</i> (91), <i>A. lumbricoïdes</i> (103), <i>F. s buski</i> (1), <i>S. mansoni</i> (88), Tapeworm (8)	A, C, D	Kolié O., 2018, PharmD [74]
57	Adults jailed	2017	Conakry (Urban)	Jail	330 (32)	<i>S. stercoralis</i> (7), <i>A. duodenale</i> (37), <i>A. lumbricoïdes</i> (10), <i>E. histolytica</i> (1), <i>S. mansoni</i> (47), Tapeworm (1), Trichine (2)	A, D	Kéita A., 2018, PharmD [75]
58	Adults and children (0–17 years)	2017	Forest Guinea (N'Zérékoré, Mixed)	Hospital	437 (41)	<i>S. stercoralis</i> (12), <i>A. duodenale</i> (56), <i>A. lumbricoïdes</i> (84), <i>E. histolytica</i> (2), Tapeworm (20), <i>T. trichiura</i> (6)	A, C	Onikoyamou K.H., 2018, MSc [76]
59	Children (0–5 years)	2017	Forest Guinea (Kissidougou, Urban)	Hospital	403 (18)	<i>A. duodenale</i> (12), <i>A. lumbricoïdes</i> (23), <i>E. histolytica</i> (7), <i>S. mansoni</i> (19), Tapeworm (11)	X	Mara F., 2018, MD [77]
60	Adults and children (2–17 years)	2017	Lower Guinea (Kamsar, Urban)	Hospital	300 (70)	<i>S. stercoralis</i> (1), <i>A. duodenale</i> (23), <i>A. lumbricoïdes</i> (82), <i>E. histolytica</i> (27), <i>E. vermicularis</i> (65), <i>S. mansoni</i> (1)	A	Traoré S., 2018, MSc [78]
Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
61	Children (0–15 years)	2017–2018	Middle Guinea (Mamou, Mixed)	Hospital	590 (39)	<i>A. duodenale</i> (35), <i>A. lumbricoïdes</i> (129), <i>S. mansoni</i> (67)	A, C, D	Soumah A., 2019, MSc [79]
62	Adults and children living with HIV (16–17 years)	2014	Conakry (Urban)	Hospital	123 (82)	<i>S. stercoralis</i> (1), <i>A. duodenale</i> (8), <i>A. lumbricoïdes</i> (44), <i>Cryptosporidium</i> (33), <i>E. histolytica</i> (8), <i>E. vermicularis</i> (3), <i>G. intestinalis</i> (1), <i>H. nana</i> (1), <i>I. belli</i> (1), <i>S. mansoni</i> (2)	A, D, E	Toure D et al., 2019 [80]
63	Children (0–5 years)	2016	Upper Guinea (Kankan, Mixed)	Hospital	820 (15)	<i>A. lumbricoïdes</i> (73), <i>E. histolytica</i> (38), <i>G. intestinalis</i> (16)	A	Fofana L., 2019, MD [81]
64	Children (5–15 years)	2017	Lower Guinea (Coyah, Mixed)	Hospital	300 (19)	<i>S. stercoralis</i> (7), <i>A. duodenale</i> (27), <i>A. lumbricoïdes</i> (7), <i>H. nana</i> (2), <i>S. mansoni</i> (13), <i>T. trichiura</i> (2)	A, B, D	Gamou C.E., 2019, PharmD [82]
65	Children (0–14 years)	2018	Lower Guinea (Kindia, Urban)	Hospital	665 (38)	<i>A. duodenale</i> (37), <i>A. lumbricoïdes</i> (132), <i>E. vermicularis</i> (53), Tapeworm (29)	A, D	Diaby F., 2019, PharmD [83]
66	Adults and Children (1–17 years)	2018	Forest Guinea (N'Zérékoré, Mixed)	Community	2655 (53)	<i>S. stercoralis</i> (1), <i>A. duodenale</i> (10), <i>A. lumbricoïdes</i> (16), <i>E. histolytica</i> (3), <i>E. vermicularis</i> (1), Tapeworm (30), Trichine (3), <i>T. trichiura</i> (1), <i>T. intestinalis</i> (3), <i>S. mansoni</i> (1330)	A	Diallo M.S.M., 2019, Master [84]
67	Children (5–15 years)	2019	Conakry (Urban)	Hospital	315 (23)	<i>S. stercoralis</i> (1), <i>A. duodenale</i> (8), <i>A. lumbricoïdes</i> (37), <i>Balantidium coli</i> (1), <i>E. histolytica</i> (7), <i>S. mansoni</i> (3), Tapeworm (11), <i>T. intestinalis</i> (5)	A, C, D	Traoré S., 2019, PharmD [85]

Table 2. Cont.

Rank	Study Population Type (Age if Children)	Year of Observation	Study Area	Study Setting	Nb Included (Prevalence %)	Type of Parasite (Number of Cases)	Diagnostic Technique	References
68	Adults and children (6–12 years)	2017	Forest Guinea (Macenta, Urban)	Community	424 (100)	<i>S. stercoralis</i> (69), <i>A. duodenale</i> (26), <i>A. lumbricoides</i> (96), <i>S. mansoni</i> (24), Tapeworm (128), Trichine (81)	A, C, D	Béavogui S., 2020, PharmD [86]
69	Pregnant women	2019	Conakry (Urban)	Hospital	382 (76)	<i>S. stercoralis</i> (43), <i>A. duodenale</i> (81), <i>A. lumbricoides</i> (66), <i>E. histolytica</i> (40) <i>E. vermicularis</i> (41), Tapeworm (6), <i>T. trichiura</i> (15)	X	Condé A.F., 2020, PharmD [87]

A. lumbricoides: *Ascaris lumbricoides*; *A. duodenale*: *Ancylostoma duodenale*; *S. mansoni*: *Schistosoma mansoni*; *E. histolytica*: *Entamoeba histolytica*; *H. nana*: *Hymenolepis nana*; *E. vermicularis*: *Enterobius vermicularis*; *S. stercoralis*: *Strongyloides stercoralis*; *T. trichiura*: *Trichuris trichiura*; *Fasciolopsis buski*: *Fasciolopsis buski*; *G. intestinalis*: *Giardia intestinalis*; *T. intestinalis*: *Trichomonas intestinalis*; *I. belli*: *Isopora belli*; *Balantidium coli*: *B. coli* Diagnostic technique: A: direct microscopic examination; B: formol-ether concentration technique; C: Kato-Katz technique; D: Willis flotation technique; E: modified Ziehl-Neelsen staining method; F: Coproculture; X: laboratory technique not described in the study; MD: medical doctor; MSc: master science; PharmD: pharmacy doctor.

The studies were carried out in the natural regions of Guinea as follows: 34 in Conakry, 8 in Lower Guinea, 5 in Middle Guinea, 4 in Upper Guinea, 16 in Forest Guinea, and 1 multicentric study in Conakry and Lower Guinea. Twelve studies included children aged 0–5 years; twenty studies included children of less than 18 years old; twenty-seven included a mixed population (children and adults); and ten included only pregnant women (Table 2). Ten studies were carried out in P1, seventeen in P2, and forty-two in P3 (Table 2).

4. Pooled Prevalence of Intestinal Parasitic Infections in Guinea

The meta-analysis involved 44,186 people with an overall prevalence of intestinal parasitic infections of 52% (95 % CI: 43, 61) (Figure 2). A substantial heterogeneity was observed in the estimation of this pooled prevalence ($I^2 = 99\%$, $p = 0$).

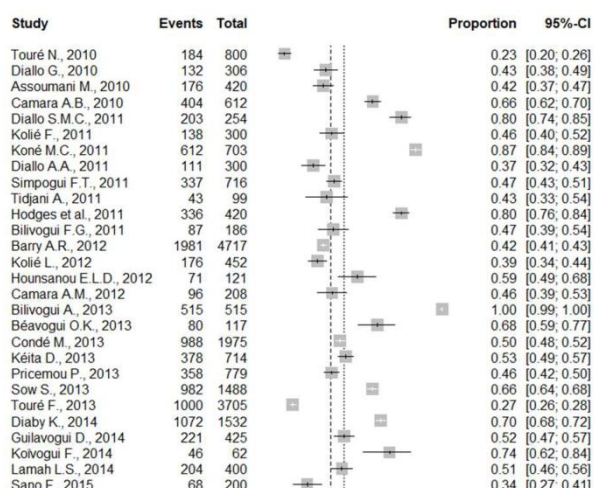


Figure 2. Forest plot representing the pooled prevalence of intestinal parasitic infections in Guinea.

5. Subgroup Analysis

5.1. Analysis by Type of Intestinal Parasitic Infections

We performed subgroup analysis by types of intestinal parasitic infections. Overall, helminths were predominant in comparison with protozoans with *A. Lumbricoides* (Figure 3), hookworm, and *S. mansoni* being the helminths most frequently found, with a prevalence of 15% (95% CI: 12,18), 6% (95% CI: 5,8), and 5% (95% CI: 3,7), respectively. Among protozoans, *E. histolytica* was predominant with a prevalence of 4% (95% CI: 3,5) (Table 3). The pooled prevalence of soil-transmitted helminth infections was 12%.

Figure 3. Forest plot representing the pooled prevalence of infections by *Ascaris lumbricoides* in Guinea.

Study	Events	Total	Proportion	95%-CI
Touré N., 2010	40	800	0.05	[0.04; 0.07]
Diallo G., 2010	37	306	0.12	[0.09; 0.16]
Assoumani M., 2010	102	420	0.24	[0.20; 0.29]
Camara A.B., 2010	113	612	0.18	[0.15; 0.22]
Diallo S.M.C., 2011	127	254	0.50	[0.44; 0.56]
Kolié F., 2011	104	300	0.35	[0.29; 0.40]
Koné M.C., 2011	207	703	0.29	[0.26; 0.33]
Diallo A.A., 2011	32	300	0.11	[0.07; 0.15]
Simpogui F.T., 2011	218	716	0.30	[0.27; 0.34]
Toujani A., 2011	38	99	0.38	[0.29; 0.49]
Hodges et al., 2011	34	420	0.08	[0.06; 0.11]
Bilivogui F.G., 2011	3	186	0.02	[0.00; 0.05]
Barry A.R., 2012	519	4717	0.11	[0.10; 0.12]
Houssanou E.L.D., 2012	29	121	0.24	[0.17; 0.33]
Camara A.M., 2012	41	208	0.20	[0.15; 0.26]
Bilivogui A., 2013	124	515	0.24	[0.20; 0.28]
Béavogui O.K., 2013	66	117	0.56	[0.47; 0.66]
Condé M., 2013	199	1975	0.10	[0.09; 0.11]
Kélla D., 2013	180	714	0.25	[0.22; 0.29]
Pricemou P., 2013	24	779	0.03	[0.02; 0.05]
Smeu S., 2013	165	1488	0.11	[0.10; 0.13]

Table 3. Prevalence of different intestinal parasites in Guinea.

Parasites	N° of Studies	Sample Size	Cases	Prevalence (%) (95% CI) *	Heterogeneity <i>p</i> -Value	I ² (%)
<i>A. lumbricoides</i>	61	38,279	5477	15 (12, 18)	0	98
<i>A. duodenale</i>	57	36,849	3114	6 (5, 8)	0	97
<i>S. mansoni</i>	55	35,256	3966	5 (3, 7)	0	99
<i>E. histolytica</i>	37	22,374	1044	4 (3, 5)	<0.01	93
Tapeworms	53	35,095	1677	3 (2, 4)	<0.01	96
<i>H. nana</i>	10	4573	188	3 (2, 5)	<0.01	73
<i>E. vermicularis</i>	34	26,965	816	2 (1, 3)	<0.01	95
<i>S. stercoralis</i>	46	31,785	1028	2 (1, 3)	<0.01	95
<i>T. trichiura</i>	32	24,193	1041	2 (1, 3)	<0.01	95
<i>G. intestinalis</i>	8	3144	52	2 (1, 4)	<0.01	86
<i>T. intestinalis</i>	20	10,977	369	2 (1, 4)	<0.01	91
Trichine	13	9068	280	1 (0, 3)	<0.01	95

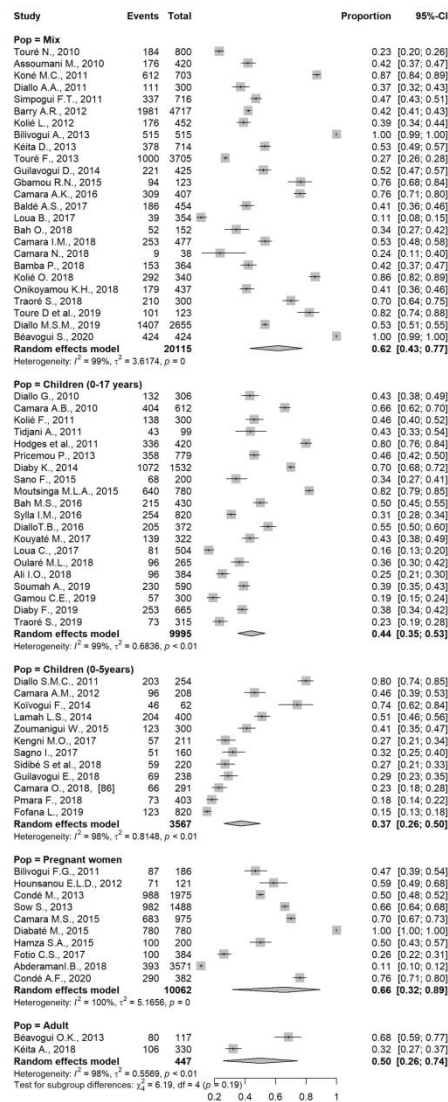
* The prevalence of parasitosis were calculated by a random-effects meta-analysis. *A. lumbricoides*: *Ascaris lumbricoides*; *A. duodenale*: *Ancylostoma duodenale*; *S. mansoni*: *Schistosoma mansoni*; *E. histolytica*: *Entamoeba histolytica*; *H. nana*: *Hymenolepis nana*; *E. vermicularis*: *Enterobius vermicularis*; *S. stercoralis*: *Strongyloides stercoralis*; *T. trichiura*: *Trichuris trichiura*; *G. intestinalis*: *Giardia intestinalis*; *T. intestinalis*: *Trichomonas intestinalis*.

5.2. Analysis by Type of Population

According to the type of study, the population was divided into 5 groups: children from 0 to 17 years, children from 0 to 5 years, adults, mixed population (children and adults), and

pregnant women (without taking into consideration the age). The overall prevalence of intestinal parasites among pregnant women was 66 % (95% CI: 32, 89), the group with the highest prevalence, followed by 62% of prevalence in the mixed population. The young children were less infected, with a prevalence of 37 % (95 % CI: 26, 50) when compared to adults (Figure 4). The differences in prevalence between these subgroups were not statistically significant. *A. lumbricoides* was the parasite more frequently found in pregnant women (11%) and children (17%). *S. mansoni* was the parasite most frequently found in adults, with a prevalence of 14% (95 % CI: 11, 18).

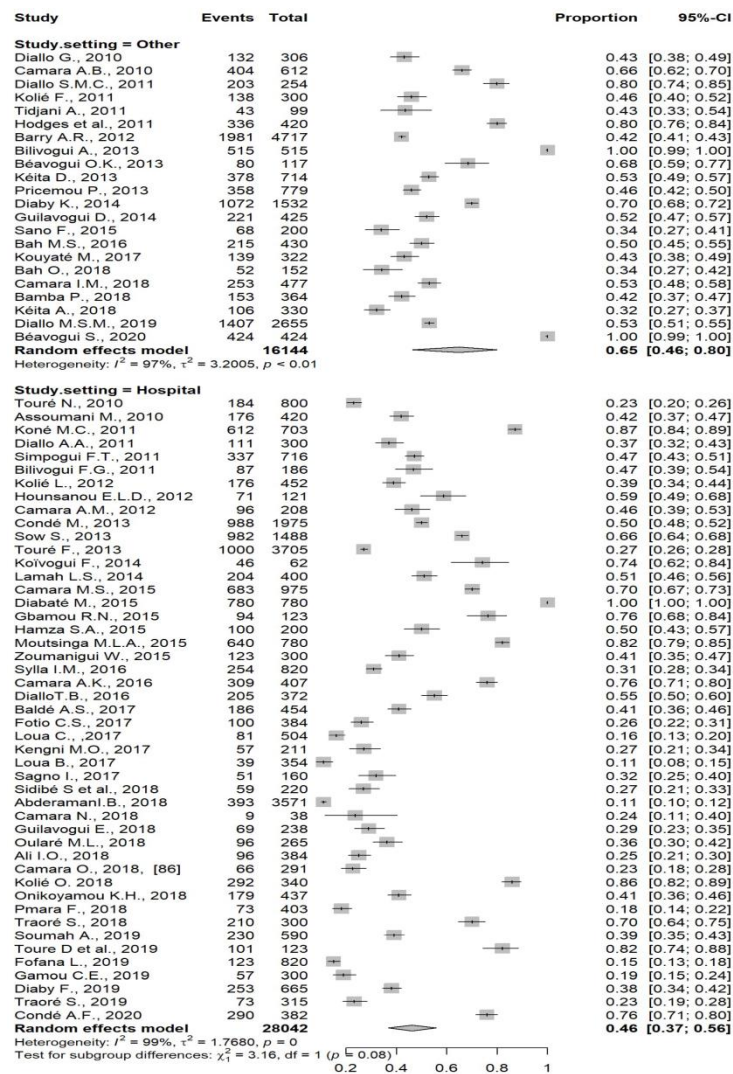
Figure 4. Forest plot of subgroup analysis based on types of population.



5.3. Analysis by Study Setting

Subgroup analysis by setting showed a higher prevalence in studies conducted in the community than in those studies performed at health care centers, with a pooled prevalence of 65% (95% CI: 46, 80) and 46% (95% CI: 37, 56), respectively. However, this difference was not significant (Figure 5).

Figure 5. Forest plot of subgroup analysis based on study setting.



5.4. Analysis by Region

There was no statistically significant difference in parasite prevalence according to the study region. However, when the association between the regions and the types of parasites was determined, the geographic occurrence of all types of parasites differed within the five regions, with the exception of *S. stercoralis*. Upper Guinea was the region with the highest prevalence of *A. duodenale*, *Trichine*, and *H. nana*. In addition, Upper Guinea together with Forest Guinea were the regions with the highest prevalence of *S. mansoni*. Middle Guinea had

the highest prevalence of tapeworms. The prevalence of *A. lumbricoides* was higher in Conakry and Middle Guinea (Table 4).

Table 4. Distribution of parasites according to regions.

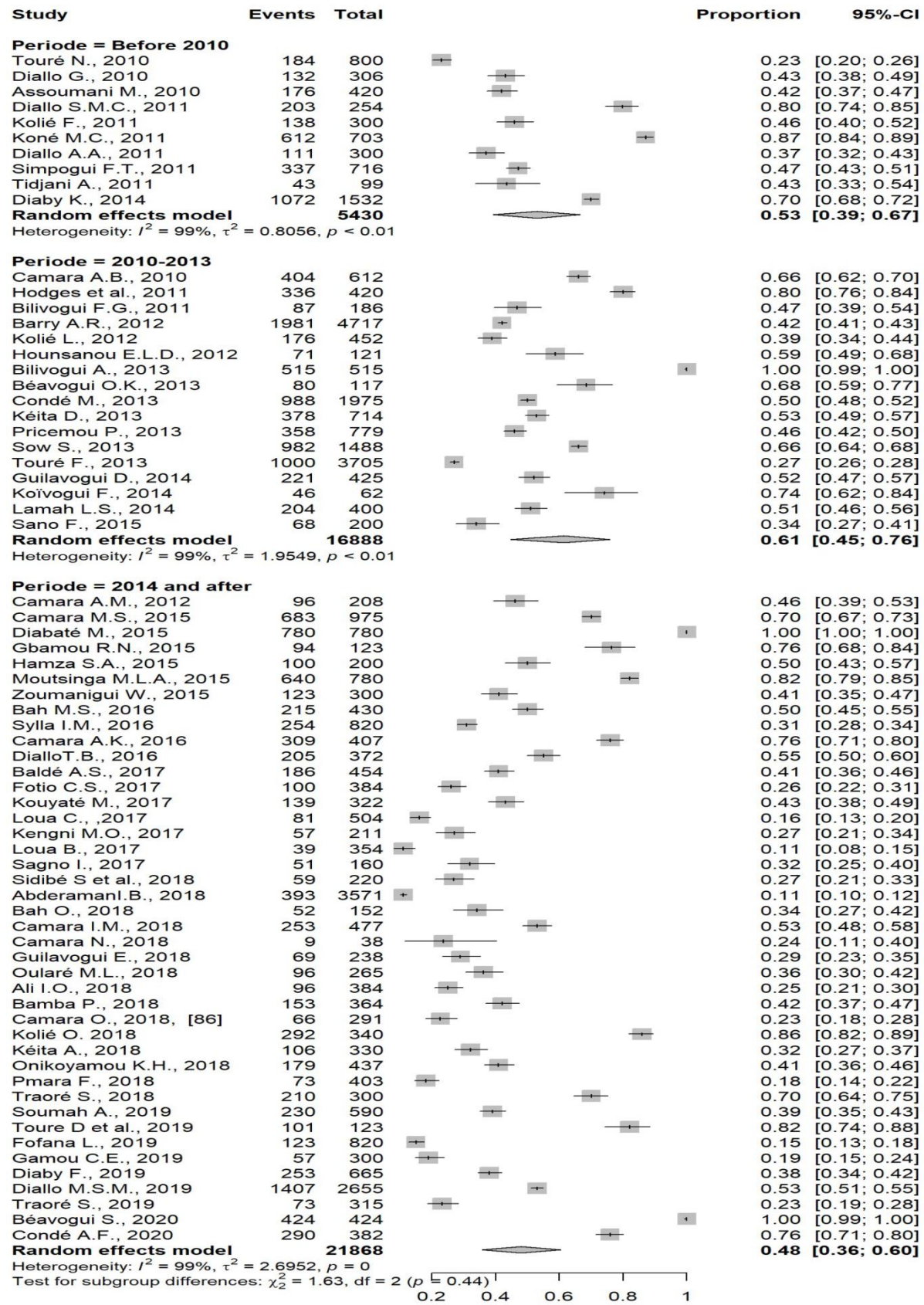
	Prevalence * with 95% CI **					
	Conakry	Lower Guinea	Forest Guinea	Middle Guinea	Upper Guinea	<i>p</i> Value
<i>S. stercoralis</i>	1 (1, 2)	2 (1, 2)	1 (0, 6)	4 (2, 6)	1 (0, 1)	0.21
<i>A. duodenale</i>	4 (3, 5)	9 (6, 12)	9 (5, 17)	3 (1, 6)	22 (18, 28)	<0.01 ***
<i>A. lumbricoides</i>	19 (14, 26)	17 (9, 31)	10 (5, 17)	19 (13, 28)	16 (8, 27)	<0.01 ***
<i>E. vermicularis</i>	1 (1, 3)	4 (1, 16)	1 (0, 6)	2 (1, 5)	5 (3, 6)	<0.01 ***
<i>S. mansoni</i>	1 (1, 2)	5 (1, 19)	15 (8, 27)	4 (1, 11)	15 (6, 31)	<0.01 ***
Tapeworms	3 (2, 4)	4 (3, 6)	2 (1, 5)	16 (11, 22)	5 (2, 13)	<0.01 ***
Trichine	0 (0, 13)	3 (2, 6)	1 (0, 5)	-	7 (6, 9)	<0.01 ***
<i>T. trichiura</i>	3 (1, 6)	1 (0, 2)	1 (0, 4)	1 (0, 3)	-	<0.01 ***
<i>H. nana</i>	3 (2, 6)	1 (0, 2)	-	-	4 (3, 5)	0.04 ***
<i>G. intestinalis</i>	2 (1, 3)	-	6 (2, 16)	8 (5, 13)	1 (0, 3)	<0.01 ***
<i>E. histolytica</i>	5 (3, 7)	6 (3, 11)	2 (1, 6)	1 (1, 2)	4 (3, 5)	<0.01 ***
<i>T. intestinalis</i>	3 (2, 6)	8 (6, 10)	1 (0, 11)	3 (1, 6)	-	<0.01 ***

* The prevalence of parasitosis were calculated by a random-effects meta-analysis; ** CI: confidence interval; *** significant *p*-value.

5.5. Analysis by Period

Subgroup analysis of the proportions included in all selected studies showed a prevalence of intestinal parasitic infections as follows: 53% for P1 (before 2010), 61% for P2 (between 2010 and 2013), and 48% for P3 (2014 and after). This difference was not statistically significant. On the other hand, in Upper Guinea, Forest Guinea, and Conakry, a higher prevalence (all parasitosis combined) was noticed before 2014, but a significant decrease in prevalence during P3 was observed in all these localities ($p < 0.01$) (Figure 6).

Figure 6. Forest plot of subgroup analysis based on study period.



5.6. Other Parasites

Other parasites were detected, but the studies reporting them were very few, and they could not be included in the meta-analysis. Overall, 13 cases of *H. diminuta* were reported in 1 study (rank: 53), 51 cases of *F. buski* in 2 (rank: 20, 56), 67 *C. parvum* cases, and 1 case of *Isospora* infection were reported in 2 studies (rank: 31, 62), among immunodepressed patients, 12 cases of *Balantidium* were reported in three studies (rank: 40, 46, and 67).

6. Discussion

The present systematic review and meta-analysis assessed the prevalence of intestinal parasite infections in the general population of the country, establishing an overall prevalence of 52%. To our knowledge, this is the first study to provide a recent estimate of the prevalence of intestinal parasites in this country. Before 2010, the prevalence of intestinal parasitosis in Guinea, according to the literature, was over 50% [4,88,89]. In this meta-analysis, this prevalence appears to vary from one study to another, sometimes over the same study period. However, even if a decrease in prevalence was observed here in P3 when compared to P1 or P2, prevalence remained high in all localities of the country. This slight decrease could be explained by the intensification of mass campaigns for the distribution of antiparasitic drugs in these localities [16]. However, the calculation of prevalence for P1 is based only on a limited number of studies that were available according to inclusion criteria and probably this is underestimating and not reflecting the real prevalence. In addition, it is well known that during the 2014–2016 Ebola virus disease (EVD) outbreak, routine health activities slowed down, including community-based activities such as deworming campaigns [3]. Data from this meta-analysis highlight a high rate of helminth infection, with the most prevalent being *A. lumbricoides* (15%), *A. duodenale* (6.0%), and *S. mansoni* (5%).

Transmission of *A. lumbricoides* is oro-faecal, so the predominance of the parasite could be attributed to its high rate of reinfection when compared to other soil-transmitted helminths [90]. Additionally, its eggs can remain dormant and tolerate adverse conditions in the soil for up to 10 years [91]. Hookworm infection is usually associated with bare skin contact with contaminated soil containing third-stage larvae [9]. *S. mansoni* infection is a consequence of contact with environmental freshwater infested with parasite larvae. Then, the disease is especially prevalent in communities lacking access to piped drinking water and adequate sanitation [92]. Particularly, *S. mansoni* infection was more prevalent in Forest Guinea. This is

consistent with the report of the Health Minister of Guinea (2010), which indicated that this zone was the most affected by this infection between 2000 and 2005 [16]. In other African countries, we found different results, with prevalences above 40% for certain parasites. As an example, in Mozambique, according to Augusto et al. [93], the parasites more prevalent were: *A. lumbricoides* (65.8%), *T. trichiura* (54.0%), hookworms (38.7%), *Entamoeba* spp. (31.2%), *G. intestinalis* (19.0%), *Taenia* spp. (5.8%), and *H. nana* (5.2%). In Ivory Coast, the study by Adoubryn et al. (14) showed a high prevalence of helminthes (*S. mansoni*: 35.5%, *N. americanus*: 25.9%, and *A. lumbricoides*: 5.2%). Concerning *A. lumbricoides*, the results are in agreement with another study reporting prevalences of 18% in South Africa [94] and South Asia [95], respectively, and 16% in Ethiopia [96].

In the current study, the pooled prevalence of soil-transmitted helminth infections was 12%. This prevalence was less than the ones reported in Rwanda (25.4%), Cameroon (24%), Nigeria (54.8%), and Ethiopia (37%) [97]. The variation between regions and countries may be due to environmental factors such as temperature, humidity, rainfall, etc. In addition, differences in levels of sanitation should also be considered [97]. In addition, this study describes the prevalence of protozoans infecting the digestive tract such as *E. histolytica* and *G. intestinalis*. Concerning *Cryptosporidium*, this parasite was detected in 33% of patients infected with HIV, making it the most frequent parasitosis after ascariasis in this population. However, the presence of *Cryptosporidium* was not searched systematically since only two studies reported Ziehl–Neelsen staining as a specific diagnostic test [50,80].

In terms of the age of the population, the studies selected in this systematic review covered all age groups. Herein, the prevalence of intestinal parasites found in children less than 17 years old was 44%. When considering children under 5, the prevalence of intestinal parasites was 37%. This prevalence of intestinal parasites among under-five children was higher than that found in Saudi Arabia (17.7%) or Zambia (19.6%), lower than findings in Pakistan (52.8%), and slightly similar to the prevalence in Sudan (30%) [97,98]. Similar results were reported recently in Colombia, where prevalences of 37% (95% CI: 26–49) and 66% (95% CI: 52–78) were reported in preschoolers and schoolchildren [99]. Behavioral and social practices in children and their weak immune status, especially in under five, may account for the high frequency of intestinal parasitic infections [2,3,8]. With respect to pinworm prevalence, this was very low in children, in contrast with studies reporting this parasite as one of the most important intestinal pathogens in this group [100]. This could be explained by the fact that the

identification of pinworms was performed only by microscopic examination of feces and not by the Scotch tape test, which is considered the gold standard for the diagnosis of *E. vermicularis* [101]. On the other hand, a prevalence of 66% of parasitic infections was found in pregnant women. This finding is similar to a prevalence of 66.7% reported in Burkina Faso [102]. In contrast, lower prevalences have been reported in Ghana (14.3%), Kenya (13.8%), or Ethiopia (27.32%) [103,104,105]. *A. duodenale* was among the most frequent type of parasite in this group. Infection by this parasite can lead pregnant women to severe anemia, and then there is an increased risk of morbidity and mortality for the mother and the baby after hookworm infections [105]. Maybe the calculation of prevalence for children and pregnant women was subject to bias considering that the detection of parasites is done systematically in these two groups. However, these results are consistent with WHO reports establishing that children and pregnant women are the most affected by soil-transmitted helminth infections [106]. All regions of Guinea presented prevalences of intestinal parasitic infections of more than 40% without significant differences. However, Upper Guinea was the region with the highest prevalence of *A. duodenale*, tapeworm, *Trichine*, and *H. nana*. Consistently, this region is considered with the highest degree of poverty [107]. On the other hand, in Upper Guinea, Forest Guinea, and Conakry, a high prevalence (all parasitosis combined) was noticed, but a significant decrease in prevalence during P3 was observed in all these localities.

7. Strengths and Limitations of the Study

A key strength of this systematic review and meta-analysis is that is the first to our knowledge to determine the pooled prevalence estimates of intestinal parasitic infections in Guinea. In addition, a rigorous search of several databases and other sources to identify eligible studies can also be considered one of the strengths of this review. On the other hand, one of the main limitations relates to a selection bias due to the fact that sampling in the majority of the studies was performed in healthcare structures since data from the general population in Guinea were limited and not available. The heterogeneity of the studies was also a limitation of the research. Furthermore, concerning diagnostic tests, microscopic examination of fresh stools was the most commonly used method. In particular, techniques more adequate for the diagnosis of *E. vermicularis* and *S. stercoralis*, such as the Scotch tape test [100] and the Baermann [108], respectively, were not performed. Then, it is possible that some parasites were not routinely detected in clinical laboratories. WHO has recommended the Kato–Katz

method as the best and most reliable diagnostic tool for the detection of human soil-transmitted helminths [109]. PCR would have been more sensitive in the identification and confirmation of several protozoans such as *Cryptosporidium* [110]. In addition, in all studies, only single stool sample tests were performed despite the recommendations suggesting at least three tests for the standard diagnosis [111]. Therefore, the prevalence was probably underestimated. There was no adequate information on the distribution of prevalence according to sex, so it was not possible to evaluate whether the prevalence of intestinal parasitosis differed according to sex.

While the risk factors associated with pathogens could not be determined from the information provided in the selected studies, we suggest that they are likely to be related, in part, to factors such as socioeconomic status, access to potable water, and sanitation solutions. These factors were not explicitly described in many studies but are known as important predictors of intestinal parasitosis incidence in developing countries [10].

8. Conclusions

This is the first study in Guinea to assess the prevalence of intestinal parasitic infections in different regions of the country. It provides important data from 1989 until now, which may help in the conception and execution of public policies. We showed that intestinal parasitosis are a real health problem in Guinea, hence the need to put in place national strategies for regular control with a view to their eradication. Prevention by deworming has been one of the most frequently applied strategies to fight against intestinal parasitosis. According to the WHO, large-scale preventive chemotherapy programs are required when the prevalence of any soil-transmitted helminth infection is higher than 20%, and this prevention is recommended twice a year when the baseline prevalence is over 50% [112]. Even if this strategy is one of the pillars of Guinea's national NTD program, deworming is administered in this country only once a year. Moreover, this problem also requires actions based on more effective long-term solutions such as supplying better sanitation, access to clean drinking water, urban cleaning, solid waste management, and provision of improved drainage and management of urban rainwater [10]. In the near future, further research in the following areas is needed: outcomes of preventive chemotherapy; identification of households at risk; the correlation between the intensity of infection and morbidity; effects of co-interventions

such as nutritional, environmental, water, hygiene, or sanitation; compliance with large-scale preventive chemotherapy programs, and effects of health education.

Supplementary Materials

The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/pathogens12020336/s1>. File S1: R code used for the analysis and the database.

Author Contributions

Conceptualization, T.G., S.V., E.V. and G.C.; formal analysis, T.G., S.V., A.K., E.V. and G.C.; funding acquisition, E.V. and G.C.; resources, S.V.; writing—original draft, T.G. and G.C.; writing—review and editing, T.G., S.V., E.V. and G.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This research was supported by the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, the Institute Pasteur de Lille, the Université de Lille, Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille. T.G. was supported by Ministère de la Santé, Conakry, Guinée.

Institutional Review Board Statement

Not applicable.

Informed Consent Statement

Not applicable.

Data Availability Statement

Not applicable.

Acknowledgments

The authors are grateful to all those who participated in the study, especially Noel Tambada Guilavogui and Aboubacar Sidiki Camara for their technical assistance.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Molyneux, D.H.; Savioli, L.; Engels, D. Neglected tropical diseases: Progress towards addressing the chronic pandemic. *Lancet* **2017**, *389*, 312–325. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
2. World Health Organization. Accelerating Work to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases: A Roadmap for Implementation: Executive Summary. 2012. Available online: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70809> (accessed on 1 January 2023).
3. Sidibe, S.; Delamou, A.; Camara, B.; Magassouba, A.S.; Ravi, N.; Beavogui, A.H. Intestinal parasitic infections among acute malnourished children during ebola at Ratoma Medical Center of Conakry. *Cent. Afr. J. Public Health* **2018**, *4*, 59–64. [Google Scholar]
4. Gyorkos, T.W.; Camara, B.; Kokoskin, E.; Carabin, H.; Prouty, R. Survey of parasitic prevalence in school-aged children in Guinea. *Sante* **1996**, *6*, 377–381. [Google Scholar] [PubMed]
5. Eyayu, T.; Kiros, T.; Workineh, L.; Sema, M.; Damtie, S.; Hailemichael, W.; Dejen, E.; Tiruneh, T. Prevalence of intestinal parasitic infections and associated factors among patients attending at Sanja Primary Hospital, Northwest Ethiopia: An institutional-based cross-sectional study. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0247075. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
6. Nithiuthai, S.; Anantaphruti, M.T.; Waikagul, J.; Gajadhar, A. Waterborne zoonotic helminthiases. *Vet. Parasitol.* **2004**, *126*, 167–193. [Google Scholar] [CrossRef]
7. Aula, O.P.; McManus, D.P.; Jones, M.K.; Gordon, C.A. Schistosomiasis with a Focus on Africa. *Trop. Med. Infect. Dis.* **2021**, *6*, 109. [Google Scholar]
8. Ali, S.A.; Niaz, S.; Aguilar-Marcelino, L.; Ali, W.; Ali, M.; Khan, A.; Amir, S.; Nasreen; Alanazi, A.D.; Cossio-Bayugar, R.; et al. Prevalence of *Ascaris lumbricoides* in contaminated faecal samples of children residing in urban areas of Lahore, Pakistan. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 21815. [Google Scholar] [CrossRef]

9. Umbrello, G.; Pinzani, R.; Bandera, A.; Formenti, F.; Zavarise, G.; Arghittu, M.; Girelli, D.; Maraschini, A.; Muscatello, A.; Marchisio, P.; et al. Hookworm infection in infants: A case report and review of literature. *Ital. J. Pediatr.* **2021**, *47*, 26. [Google Scholar] [CrossRef]
10. Hajissa, K.; Islam, M.A.; Sanyang, A.M.; Mohamed, Z. Prevalence of intestinal protozoan parasites among school children in Africa: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2022**, *16*, e0009971. [Google Scholar] [CrossRef]
11. Certad, G.; Viscogliosi, E.; Chabé, M.; Cacciò, S.M. Pathogenic mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends Parasitol.* **2017**, *33*, 561–576. [Google Scholar] [CrossRef]
12. Erismann, S.; Knoblauch, A.M.; Diagbouga, S.; Odermatt, P.; Gerold, J.; Shrestha, A.; Tarnagda, G.; Savadogo, B.; Schindler, C.; Utzinger, J.; et al. Prevalence of intestinal parasitic infections and associated risk factors among schoolchildren in the Plateau Central and Centre-Ouest regions of Burkina Faso. *Parasites Vectors* **2016**, *9*, 554. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
13. Diongue, K.; Ndiaye, M.; Seck, M.C.; Diallo, M.A.; Ndiaye, Y.D.; Badiane, A.S.; Ndiaye, D. Distribution of Parasites Detected in Stool Samples of Patients in Le Dantec University Hospital of Dakar, Senegal, from 2011 to 2015. *J. Trop. Med.* **2017**, *2017*, 8296313. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
14. Adoubryn, K.D.; Kouadio-Yapo, C.; Ouhon, J.; Aka, D.; Bintto, F.; Assoumou, A. Intestinal parasites in children in Biankouma, Ivory Coast (mountaineous western region): Efficacy and safety of praziquantel and albendazole. *Med. Sante Trop.* **2012**, *22*, 170–176. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
15. Yoseph, A.; Beyene, H. The high prevalence of intestinal parasitic infections is associated with stunting among children aged 6-59 months in Boricha Woreda, Southern Ethiopia: A cross-sectional study. *BMC Public Health* **2020**, *20*, 1270. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
16. Ministère de la Santé, Direction Nationale des Grandes Endémies et de la et Lutte contre la Maladie (DNGELM). Plan directeur de la lutte contre les maladies tropicales négligées en Guinée (2019–2023). 2018. Available online: <https://portail.sante.gov.gn/wp-content/uploads/2020/09/PD-Corrig%C3%A9-MLO-2.pdf> (accessed on 1 January 2023).

17. Ministère de la Santé. Plan National de Développement Sanitaire (PNDS)-2015-2024-Guinée. 2015. Available online: https://portail.sante.gov.gn/wp-content/uploads/2022/08/Plan_National-de-D%C3%A9veloppement-Sanitaire-2015-2024-Ao%C3%BBt-2015.pdf (accessed on 1 January 2023).
18. Moher, D.; Shamseer, L.; Clarke, M.; Ghersi, D.; Liberati, A.; Petticrew, M.; Shekelle, P.; Stewart, L.A.; PRISMA-P Group. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst. Rev.* **2015**, 4, 1. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
19. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2021. Available online: <https://www.R-project.org/> (accessed on 1 January 2023).
20. Touré, N. Fréquence de L'amibiase Intestinale dans les Services de Médecine Générale à L'hôpital National Ignace Deen; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2010. [Google Scholar]
21. Diallo, G. Prévalence des Parasitoses Intestinales chez les Elèves de L'école Primaire de Touguiwondy; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2010. [Google Scholar]
22. Assoumani, M. Prévalence des Helminthiases Intestinales au CMC de Coleah (Commune de Matam, Conakry); Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2010. [Google Scholar]
23. Camara, A.B. Prévalence des Parasitoses Intestinales chez les Enfants de 6 à 14 ans au Quartier Sinanya (Commune de Kindia); Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2010. [Google Scholar]
24. Diallo, S.M.C. Prévalence des Parasitoses Intestinales chez les élèves de L'école Primaire de Coléah Centre (Commune de Matam); Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2011. [Google Scholar]
25. Kolié, F. Prévalence des Helminthiases Intestinales à L'école Primaire Publique de Wanindara (Commune de Ratoma); Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2011. [Google Scholar]
26. Koné, M.C. Prévalence des Parasitoses Intestinales au CMC de Matam; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2011. [Google Scholar]

27. Diallo, A.A. Fréquence des Parasitoses Intestinales au CMC de Ratoma; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2011. [Google Scholar]
28. Simpogui, F.T. Fréquence des Parasitoses Intestinales chez les Patients en Consultation au CMC de Flamboyant, Commune de Ratoma; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2011. [Google Scholar]
29. Tidjani, A. Prévalence des Parasitoses Intestinales chez les Enfants du Village D'enfants SOS de Conakry; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2011. [Google Scholar]
30. Hodges, M.; Koroma, M.M.; Baldé, M.S.; Turay, H.; Fofanah, I.; Divall, M.J.; Winkler, M.S.; Zhang, Y. Current status of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in Beyla and Macenta Prefectures, Forest Guinea. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2011**, *105*, 672–674. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
31. Bilivogui, F.G. Prévalence des Parasitoses Intestinales chez les Femmes Enceintes, en Consultation au Centre de Santé de Gbessia Port 1; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2011. [Google Scholar]
32. Barry, A.R. Profil des Helminthiases Intestinales Dans la Zone Minière de la Compagnie de Bauxites de Kindia (Simbaya et Débélé) de 2005 à 2010; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2012. [Google Scholar]
33. Kolié, L. Prévalence des Bilharzioses à L'hôpital Régional de N'Zérékoré; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2012. [Google Scholar]
34. Housanou, E.L.D. Les parasitoses Intestinales chez les Femmes Enceintes: Fréquence et Profil Epidémiologique au CMC de Coléah; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2012. [Google Scholar]
35. Camara, A.M. Gastroentérites Aigues chez les Enfants de 0 à 5 ans: Aspects Epidémiologiques, Cliniques et Thérapeutiques au Service de Pédiatrie de L'hôpital Régional de Mamou; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2012. [Google Scholar]
36. Bilivogui, A. Prévalence et Facteurs Déterminants de L'endémicité des Schistosomiasés dans la Sous-Préfecture de Koyamah (Macenta); Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2013. [Google Scholar]

37. Béavogui, O.K. Prévalence des Helminthiases Intestinales et des Facteurs Déterminants leur Endémicité chez les Etudiants de l'Université Thierno Amadou Diallo de Conakry; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2013. [Google Scholar]
38. Condé, M. Utilisation des Antiparasitaires Intestinaux chez les Femmes Enceintes au Service de Maternité des CMC de Flamboyant et Matam; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2013. [Google Scholar]
39. Kéita, D. Prévalence des Helminthiases Intestinales et Leur Endémicité au Port Autonome de Conakry; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2013. [Google Scholar]
40. Pricemou, P. Prévalence et Facteurs Déterminants de L'endémicité de la Schistosomiase Intestinale Dans la Sous-Préfecture de Boola; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2013. [Google Scholar]
41. Sow, S. Utilisation des Antiparasitaires intestinaux chez les Femmes Enceintes au Service de Maternité de L'hôpital National Donka; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2013. [Google Scholar]
42. Touré, F. Profil des Antiparasitaires Utilisés au Service de Médecine Générale et Pédiatrique du CNFSA Jean Paul II; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2013. [Google Scholar]
43. Diaby, K. Profil des Helminthiases Intestinales Dans la Zone Minière de Kintinia (Siguiri); Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2014. [Google Scholar]
44. Guilavogui, D. Prévalence et Facteurs Déterminants de L'endémicité des Schistosomiasés dans la Sous-Préfecture de Sérédou (Macneta); Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2014. [Google Scholar]
45. Koïvogui, F. Malnutrition Aigüe et Parasitoses Intestinales chez les Enfants de 6 à 59 mois au Service de Pédiatrie à L'hôpital Régional de N'Zérékoré; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2014. [Google Scholar]

46. Lamah, L.S. Prévalence des Parasitoses Intestinales au Service de Pédiatrie de L'hôpital Régional de N'Zérékoré; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2014. [Google Scholar]
47. Sano, F. Prévalence des Helminthiases Intestinales chez les Enfants de L'école Primaire de Sonfonia centre (Conakry); Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2015. [Google Scholar]
48. Camara, M.S. Enquête sur la Prescription des Antiparasitaires Intestinaux chez les Femmes Enceintes au Service de Maternité de L'hôpital Préfectoral de Siguri; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2015. [Google Scholar]
49. Diabaté, M. Enquête sur la Prescription des Antiparasitaires Intestinaux chez les Femmes Enceintes à L'hôpital Régional de N'Zérékoré; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2015. [Google Scholar]
50. Gbamou, R.N. Prévalence des Parasitoses Intestinales chez les Personnes Vivantes avec le VIH/TB au Service de Pneumo-Phtisiologie de Conakry; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2015. [Google Scholar]
51. Hamza, S.A. Prévalence des Parasitoses Intestinales Anémiantes chez les Femmes Enceintes reçus en Consultation à L'hôpital Régional Alpha Oumar Diallo de Kindia; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2015. [Google Scholar]
52. Moutsinga, M.L.A. Etude Restrospective des Helminthiases Intestinales Chez les Enfants de 3 à 17 ans reçus en Consultation au Centre de Santé Arc-en-ciel de Lambagni, Commune de Ratoma; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2015. [Google Scholar]
53. Zoumanigui, W. Fréquence des Diarrhées D'origine Parasitaire au Service de Pédiatrie Chez les Enfants de 0 à 5 ans à L'hôpital Préfectoral de Macenta; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2015. [Google Scholar]
54. Bah, M.S. Prévalence des Helminthiases Intestinales chez les Elèves de L'école Primaire de Tangama et Alpha Yaya dans la Commune Urbaine de Dalaba; Bibliothèque

- Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2016. [Google Scholar]
55. Sylla, I.M. Enquête sur la Prescription des Antihelminthiques à la Pédiatrie de L'hôpital Préfectoral de Gueckédou; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2016. [Google Scholar]
 56. Camara, A.K. Prévalence des Helminthes Intestinaux Anemiantes chez les Patients Reçus en Consultation au CMC de Matam; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2016. [Google Scholar]
 57. Diallo, T.B. Prévalence et Aspect Epidémiologique des Helminthiases Intestinales Chez les Enfants âgés de 5-15 Ans Reçus au Laboratoire de L'hôpital Régional de Labé; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2016. [Google Scholar]
 58. Baldé, A.S. Prévalence des Parasitoses Intestinales Anemiantes chez les Patients Reçus en Consultation à L'hôpital Régional de Labé; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2017. [Google Scholar]
 59. Fotio, C.S. Prévalence des Parasitoses Intestinales chez la Femme Enceinte au CMC de Matam; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2017. [Google Scholar]
 60. Kouyaté, M. Prévalence des Helminthiases Intestinales et Facteurs de Leur Endémicité à l'école Primaire de Sangoyah; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2017. [Google Scholar]
 61. Loua, C. Enquête sur la Prescription des Antihelminthiques au Service de Pédiatrie de l'Hôpital régional de N'Zérékoré; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2017. [Google Scholar]
 62. Kengni, M.O. Prévalence des Diarrhées D'origine Parasitaire chez les Enfants âgés de 0 à 5 ans au Service de Pédiatrie du CMC de Matam; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2017. [Google Scholar]
 63. Loua, B. Prévalence des Parasitoses Intestinales au CMC de Matam; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2017. [Google Scholar]
 64. Sagno, I. Diarrhées Aigües chez les enfants âgés de à 0 à 59 mois: Aspects Epidémiologiques, Cliniques et Thérapeutiques au Service de pédiatrie de L'hôpital

- Préfectural de Lola; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2017. [Google Scholar]
65. Abderaman, I.B. Enquête Rétrospective sur la Prescription des Antiparasitaires chez les Femmes Enceintes au CMC de la Minière; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
66. Bah, O. Évolution Epidémiologique de la Shistosomiase à la de la Shistosoma Mansoni à Tatagui, Commune Urbaine de Kindia; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
67. Camara, I.M. Étude de la Dissémination des géo Helminthes dans le District de Samoreyah, Commune Rurale de Damakaniyah, Kindia; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
68. Camara, N. Diarrhée au Cours de l'Infection par le VIH/SIDA dans le Service d'Hématologie de l'Hôpital National Ignace-Deen: Prévalence, Clinique et Etiologie; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
69. Guilavogui, E. Prévalence des Parasitoses Intestinales chez Les enfants d'âge pré-Scolaire au Centre de Santé Madina de Conakry; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
70. Oularé, M.L. Les diarrhées de L'enfant au Service de Pédiatrie de L'hôpital Préfectoral de Kissidougou: Aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
71. Ali, I.O. Prévalence des Helminthiases Intestinales chez les Enfants âgés de 2 à 14 ans Reçus en Consultation au Centre Mère-enfant Bernard Kouchner de Coronthie; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
72. Bamba, P. Prévalence des Helminthiases Intestinales dans la Zone Minière de Kamsar; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
73. Camara, O. Diarrhée Aiguë Chez les Enfants de 0 a 5 ans: Aspect Epidémiologique, Clinique et Thérapeutique au Service de Pédiatrie du CMC de Matam; Bibliothèque

- Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
74. Kolié, O. Prévalence des Parasitoses Intestinales à L'hôpital Régional de Kankan; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
75. Kéita, A. Prévalence du Parasitisme Intestinal en Milieu Carcéral de la Maison Centrale de Conakry; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
76. Onikoyamou, K.H. Prévalence de la Shistosomiase chez les Enfants reçus en Consultation à L'hôpital Régional de N'Zérékoré; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
77. Mara, F. Diarrhées Aigües chez les Enfants âgés de 0 à 59 mois au Service de Pédiatrie à L'hôpital Préfectoral de Kissidougou: Aspects Epidémiologiques, Cliniques et Thérapeutiques; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
78. Traoré, S. Prévalence des Parasitoses Intestinales chez les Patients Reçus en Consultation à la Clinique Nimba de Kamsar; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2018. [Google Scholar]
79. Soumah, A. Prévalence des Helminthiases Intestinales Chez les Enfants de 0 à 15 ans Reçus en Consultation à L'hôpital Régional de Mamou; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2019. [Google Scholar]
80. Toure, D.; Samoura, A.; Camara, L.; Camara, A.; Samoura, S.; Diallo, T. Intestinal Parasitoses in Co-infected Patients Tuberculosis/HIV: First investigation in Guinea. *Jaccr Infect.* **2019**, *1*, 16–21. [Google Scholar]
81. Fofana, L. Gastro-Entérites Aigües Chez les Enfants de 0 à 5 ans au Service de Pédiatrie à L'hôpital Régional de Kanka: Aspects Epidémiologiques, Cliniques et Thérapeutiques; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2019. [Google Scholar]
82. Gamou, C.E. Prévalence des Helminthiases Intestinales chez les Enfants d'âge Scolaire reçus en Consultation au Service de Pédiatrie à L'hôpital Préfectoral de Coyah; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2019. [Google Scholar]

83. Diaby, F. Enquête sur la Prescription des Anti-Helminthiques au Service de Pédiatrie de L'hôpital Régional de Kindia; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2019. [Google Scholar]
84. Diallo, M.S.M. Prévalence des Shistosomiasés Mansoní dans la Commune Urbaine de N'Zérékoré; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2019. [Google Scholar]
85. Traoré, S. Profil Epidémiologique des Parasitoses Intestinales chez les Enfants d'âge Scolaire Reçus au MCM Matam; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2019. [Google Scholar]
86. Béavogui, S. Prévalence des Helminthiases Intestinales chez Les Enfants D'âge Scolaire dans le Quartier Bouzie, Commune Urbaine de Macenta; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2020. [Google Scholar]
87. Condé, A.F. Analyse de la Prescription des Antiparasitaires Intestinaux chez les Femmes Enceintes au Service de Maternité du CMC de Ratoma; Bibliothèque Universitaire de l'Université Gamal Abdel Nasser: Conakry, Guinea, 2020. [Google Scholar]
88. Clapier, I. Les bilharzioses dans la région militaire de la Guinée. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* **1916**, 9, 739–4717. [Google Scholar]
89. Nozais, J.P. Results of a parasitologic survey carried out in 21 villages in Konkouré Valley (French Guinea). Preliminary study. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Fil.* **1986**, 79, 409–413. [Google Scholar]
90. Jia, T.W.; Melville, S.; Utzinger, J.; King, C.H.; Zhou, X.N. Soil-transmitted helminth reinfection after drug treatment: Asystematic review and meta-analysis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2012**, 6, e1621. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
91. Chávez-Ruvalcaba, F.; Chávez-Ruvalcaba, M.I.; Moran Santibañez, K.; Muñoz-Carrillo, J.L.; León Coria, A.; Reyna Martínez, R. Foodborne Parasitic Diseases in the Neotropics—A Review. *Helminthologia* **2021**, 58, 119–133. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
92. Mari, L.; Ciddio, M.; Casagrandi, R.; Perez-Saez, J.; Bertuzzo, E.; Rinaldo, A.; Sokolow, S.H.; De Leo, G.A.; Gatto, M. Heterogeneity in schistosomiasis transmission dynamics. *J. Theor. Biol.* **2017**, 432, 87–99. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

93. Augusto, G.; Nalá, R.; Casmo, V.; Sabonete, A.; Mapaco, L.; Monteiro, J. Geographic distribution and prevalence of schistosomiasis and soil-transmitted helminths among schoolchildren in Mozambique. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2009**, *81*, 799–803. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
94. Sacolo-Gwebu, H.; Chimbari, M.; Kalinda, C. Prevalence and risk factors of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis among preschool aged children (1–5 years) in rural KwaZulu-Natal, South Africa: A cross-sectional study. *Infect. Dis. Poverty* **2019**, *8*, 47. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
95. Silver, Z.A.; Kaliappan, S.P.; Samuel, P.; Venugopal, S.; Kang, G.; Sarkar, R.; Ajjampur, S.S.R. Geographical distribution of soil transmitted helminths and the effects of community type in South Asia and South East Asia—A systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2018**, *12*, e0006153. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
96. Ibrahim, T.; Zemene, E.; Asres, Y.; Seyoum, D.; Tiruneh, A.; Gedefaw, L.; Mekonnen, Z. Epidemiology of soil-transmitted helminths and *S. mansoni*: A base-line survey among school children, Ejaji, Ethiopia. *J. Infect. Dev. Ctries.* **2018**, *12*, 1134–1141. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
97. Aemiro, A.; Menkir, S.; Tegen, D.; Tola, G. Prevalence of soil-transmitted helminthes and associated risk factors among people of Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *Infect. Dis.* **2022**, *15*, 11786337211055437. [Google Scholar] [CrossRef]
98. Mekonnen, H.S.; Ekubagewargies, D.T. Prevalence and factors associated with intestinal parasites among under-five children attending Woreta Health Center, Northwest Ethiopia. *BMC Infect. Dis.* **2019**, *19*, 256. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
99. Pazmiño, F.A.; Mora-Salamanca, A.F.; Mahecha, B.S.P.; Moreno, E.J.P.; Olivera, M.J.; Ospina, A.K.; López, M.C. Prevalence of intestinal parasitism in preschool and school children in Colombia: Systematic review and meta-analysis. *Trop. Med. Int. Health* **2022**, *27*, 781–794. [Google Scholar] [CrossRef]
100. Khan, W.; Panhwar, W.A.; Mehmood, S.A.; Ahmed, S.; Ahmed, M.S.; Khan, N.; Khan, M.M.; Akram, W.; Ullah, S.; Imran. Pinworm infection in school children of four districts of Malakand region, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Braz. J. Biol.* **2021**, *82*, e238769. [Google Scholar] [CrossRef]

101. Wendt, S.; Trawinski, H.; Schubert, S.; Rodloff, A.C.; Mössner, J.; Lübbert, C. The diagnosis and treatment of pinworm infection. *Dtsch. Arztebl. Int.* **2019**, *116*, 213–219. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
102. Sangaré, I.; Guiguemdé, K.T.; Zida, A.; Sirima, C.; Sawadogo, P.M.; Cissé, M.; Assogba, S.B.; Guiguemdé, T.R.; Bamba, S. Prevalence of intestinal parasitic infections among pregnant women in Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Ann. Parasitol.* **2021**, *67*, 489–497. [Google Scholar] [PubMed]
103. Alula, G.A.; Munshea, A.; Nibret, E. Prevalence of intestinal parasitic infections and associated risk factors among pregnant women attending prenatal care in the Northwestern Ethiopia. *Biomed. Res. Int.* **2021**, *2021*, 3387742. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
104. Wekesa, A.W.; Mulambalah, C.S.; Muleke, C.I.; Odhiambo, R. Intestinal helminth infections in pregnant women attending antenatal clinic at Kitale District Hospital, Kenya. *J. Parasitol. Res.* **2014**, *2014*, 823923. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
105. Animaw, Z.; Melese, A.; Demelash, H.; Seyoum, G.; Abebe, A. Intestinal parasitic infections and associated factors among pregnant women in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth* **2021**, *21*, 474. [Google Scholar] [CrossRef]
106. Pan American Health Organization. Soil Transmitted Helminthiasis. Available online: <https://www.paho.org/en/topics/soil-transmitted-helminthiasis> (accessed on 1 January 2023).
107. Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique. Analyse de la Situation des Maladies Tropicales Négligées en Guinée; Guinée. 2010. Available online: <https://portail.sante.gov.gn/wp-content/uploads/2020/04/RTI-Analyse-Situation-2010.pdf> (accessed on 1 January 2023).
108. Pocaterra, L.A.; Ferrara, G.; Peñaranda, R.; Rojas, E.; Pérez-Chacón, G.; Hernán, A.; Certad, G.; Goldstein, C.; Núñez, L. Improved detection of *Strongyloides stercoralis* in modified agar plate cultures. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2017**, *96*, 863–865. [Google Scholar] [CrossRef]

109. Fletcher, S.M.; McLaws, M.L.; Ellis, J.T. Prevalence of gastrointestinal pathogens in developed and developing countries: Systematic review and meta-analysis. *J. Public Health Res.* **2013**, *2*, 42–53. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
110. O’Leary, J.K.; Sleator, R.D.; Lucey, B. *Cryptosporidium* spp. diagnosis and research in the 21st century. *Food Waterborne Parasitol.* **2021**, *24*, e00131. [Google Scholar] [CrossRef]
111. Nikolay, B.; Brooker, S.J.; Pullan, R.L. Sensitivity of diagnostic tests for human soil-transmitted helminth infections: A meta-analysis in the absence of a true gold standard. *Int. J. Parasitol.* **2014**, *44*, 765–774. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
112. World Health Organization. *Guideline: Preventive Chemotherapy to Control Soil-Transmitted Helminth Infections in At-Risk Population Groups*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2017. [Google Scholar]

Article 3 : Timothé Guilavogui, Nausicaa Gantois, Gaël Even, Jeremy Desramaut, Ellena Dautel, Constance Denoyelle, Fode Ibrahima Cissé, Salif Cherif Touré, Bakary Luther Kourouma, Manasi Sawant, Magali Chabé, Gabriela Certad and Eric Viscogliosi. Detection, Molecular Identification and Transmission of the Intestinal Protozoa *Blastocystis* sp. in Guinea from a Large-Scale Epidemiological Study Conducted in the Conakry Area. *Microorganisms* 2022, 10, 446

Résumé

Blastocystis sp. est un parasite unicellulaire dont on estime qu'il colonise le tube digestif de 1 à 2 milliards de personnes dans le monde. Bien qu'il s'agisse du protozoaire intestinal le plus fréquent dans les selles humaines, il est encore peu étudié dans les pays où le risque d'infection est élevé en raison des mauvaises conditions sanitaires et d'hygiène, comme en Afrique. Par conséquent, la présente étude a été menée pour déterminer la prévalence et la distribution des sous-types (ST) de *Blastocystis* sp. dans la population guinéenne. Pour ce faire, des échantillons fécaux ont été prélevés chez 500 individus présentant ou non des troubles digestifs dans deux hôpitaux de Conakry. La recherche du parasite dans les selles a été effectuée par PCR en temps réel ciblant le gène de la petite sous-unité de l'ADNr, suivie du séquençage des produits PCR pour le sous-typage des isolats. Un total de 390 participants (78.0%) était positif pour *Blastocystis* sp. Cinq ST ont été identifiés dans la cohorte guinéenne (ST1, ST2, ST3, ST4 et ST14) avec une fréquence variable, le ST3 étant prédominant. Parmi eux, le ST4 n'a été trouvé que chez deux patients, confirmant sa rareté globale en Afrique, tandis que les infections par le ST14 étaient probablement le résultat d'une transmission zoonotique à partir de bovidés. Aucune association significative n'a été détectée entre la colonisation par *Blastocystis* sp. ou la distribution des ST et le statut symptomatique des sujets guinéens ou la présence de symptômes digestifs. En revanche, la consommation d'eau de forage représentait un facteur de risque significatif d'infection par *Blastocystis* sp. La prédominance du ST3 associée à sa faible diversité intra-ST suggère fortement une transmission interhumaine à grande échelle de ce ST au sein de cette cohorte. Parallèlement, la plus grande diversité intra-ST des ST1 et ST2 était probablement corrélée à diverses sources potentielles d'infection en plus de la transmission anthroponotique. Ces résultats ont mis en évidence la circulation active du parasite en Guinée, comme cela a été rapporté dans certains pays africains à faible

revenu, et la nécessité de mettre en œuvre des mesures de prévention et de contrôle afin de limiter la circulation de ce parasite dans cette zone géographique endémique.

Ma contribution dans cette étude

- Participation à la mise en place de cette étude
- Enregistrement et analyse des données
- Participation à la rédaction de l'article

Detection, Molecular Identification and Transmission of the Intestinal Protozoa *Blastocystis* sp. in Guinea from a Large-Scale Epidemiological Study Conducted in the Conakry Area

Timothé Guilavogui ^{1,2}, Nausicaa Gantois ¹, Gaël Even ^{3,4}, Jeremy Desramaut ¹, Ellena Dautel ¹, Constance Denoyelle ¹, Fode Ibrahima Cissé ⁵, Salif Cherif Touré ⁵, Bakary Luther Kourouma ⁶, Manasi Sawant ¹, Magali Chabé ¹, Gabriela Certad ^{1,7} and Eric Viscogliosi ¹

1 CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019—UMR 9017—CIIL—Centre d’Infection et d’Immunité de Lille, Université de Lille, F-59000 Lille, France; timotheguilavogui@gmail.com (T.G.); nausicaa.gantois@pasteur-lille.fr (N.G.); jeremy.desramaut@pasteur-lille.fr (J.D.); dautel.ellena@gmail.com (E.D.); constance.denoyelle@gmail.com (C.D.); manasi.sawant@pasteur-lille.fr (M.S.); magali.chabe@univ-lille.fr (M.C.); gabriela.certad@pasteur-lille.fr (G.C.); eric.viscogliosi@pasteur-lille.fr (E.V.)

2 Unité d’Appui à la Gestion et la Coordination des Programmes, Ministère de la Santé, Conakry BP 585, Guinea

3 Gènes Diffusion, F-59501 Douai, France; g.even@genesdiffusion.com

4 PEGASE-Biosciences (Plateforme d’Expertises Génomiques Appliquées aux Sciences Expérimentales), Institut Pasteur de Lille, F-59000 Lille, France

5 Hôpital National Ignace Deen CHU de Conakry, Laboratoire de Parasitologie, 6ème Avenue—Kouléwardy, Kaloum, Conakry BP 2190, Guinea; epv59@hotmail.com (F.I.C.); touresalif17@gmail.com (S.C.T.)

6 Centre de Santé Anastasis, Quartier Nongo, Conakry BP 1603, Guinea; bakaryluther@gmail.com

7 Délégation à la Recherche Clinique et à l’Innovation, Groupement des Hôpitaux de l’Institut Catholique de Lille, F-59000 Lille, France

* Correspondence: eric.viscogliosi@pasteur-lille.fr

Abstract

Blastocystis sp. is a single-celled parasite estimated to colonize the digestive tract of 1 to 2 billion people worldwide. Although it represents the most frequent intestinal protozoa in human stools, it remains still under-investigated in countries with a high risk of infection due to poor sanitary and hygiene conditions, such as in Africa. Therefore, the present study was

carried out to determine the prevalence and subtype (ST) distribution of *Blastocystis* sp. in the Guinean population. For this purpose, fecal samples were collected from 500 individuals presenting or not digestive disorders in two hospitals of Conakry. Search for the parasite in stools was performed by real-time PCR targeting the small subunit rDNA gene followed by sequencing of the PCR products for subtyping of the isolates. A total of 390 participants (78.0%) was positive for *Blastocystis* sp. Five STs were identified in the Guinean cohort (ST1, ST2, ST3, ST4 and ST14) with varying frequency, ST3 being predominant. Among them, ST4 was found in only two patients confirming its global rarity in Africa whereas infections by ST14 were likely the result of zoonotic transmission from bovid. No significant association was detected between *Blastocystis* sp. colonization or ST distribution and the symptomatic status of Guinean subjects or the presence of digestive symptoms. In contrast, drinking water consumption represented a significant risk factor for infection by *Blastocystis* sp. Predominance of ST3 coupled with its low intra-ST diversity strongly suggested large-scale human-to-human transmission of this ST within this cohort. In parallel, the highest intra-ST diversity of ST1 and ST2 was likely correlated with various potential sources of infection in addition to anthroponotic transmission. These findings highlighted the active circulation of the parasite in Guinea as reported in some low-income African countries and the necessity to implement prevention and control measures in order to limit the circulation of this parasite in this endemic geographical area.

Keywords: *Blastocystis* sp.; intestinal protozoa; Africa; Guinea; molecular epidemiology; real-time quantitative PCR; SSU rDNA sequence; subtyping; transmission; zoonosis

Introduction

Blastocystis sp. is an anaerobic protist belonging to the highly diversified Stramenopile phylum that can colonize the intestine of humans and various groups of animals, including mammals, birds, reptiles or insects among others [1–5]. It has a very large distribution worldwide since it is estimated that over 1 billion people are colonized by this microorganism [6]. However, its prevalence is increased in underdeveloped countries that can easily be explained by its main mode of transmission, predominantly the fecal-oral route, via consumption of food or water contaminated with cystic resistance forms of the parasite [5,7]. This transmission is therefore directly correlated with the poor sanitary and hygienic conditions identified in low-income countries. Consequently, *Blastocystis* sp. frequencies

reaching or exceeding 50% in African [8–10] or Asian [11,12] rural areas have been commonly reported, whereas the average prevalence of this enteric protozoan is around 15–25% in European industrialized countries, such as France [13], Spain [14] or Czech Republic [15].

The fact that the vast majority of individuals colonized by *Blastocystis* sp. does not present digestive disorders has ever questioned the potential pathogenicity of this microorganism [5,16–18]. However, studies using various in vitro systems and experimental rodent models [19] coupled with clinical case reports [20] clearly demonstrated the virulence of at least some isolates and their damaging effect on the intestinal epithelium of the host. In particular, these virulent isolates are able to induce apoptosis and degradation of tight junction proteins of targeted cells, resulting in increased intestinal permeability. Thus, taking also into account cumulative genomic data [21–24], current models of the interactions and pathways involved in *Blastocystis* sp. infection and pathogenicity have been proposed [19,25], potentially leading to non-specific intestinal symptoms such as diarrhea or abdominal pain and chronic hives. In parallel, recent findings showed that *Blastocystis* sp. colonization in humans was associated with changes in microbiota composition resulting in increased bacterial richness and, thus, in a healthy gut microbiome [26–28]. In contrast, *Blastocystis* sp. can decrease the abundance of some beneficial bacteria in a mouse model leading to a dysbiotic state [29].

Even if isolates of this parasite identified in different hosts mostly resemble each other morphologically [1,2,5], a very large genetic diversity has been observed within the genus *Blastocystis* based on the comparison of the small subunit (SSU) rDNA gene sequences. Briefly, 17 separate lineages so-called subtypes (STs) which may correspond to species were initially proposed among mammalian and avian isolates (ST1 to ST17) with different frequency in host species [30]. More recently, 15 additional STs (ST18 to ST32) were identified from birds, Bovidae and Cervidae [31–36].

However, four of these new STs (ST18–ST20 and ST22) are not currently considered as valid since they represent potential chimaeras arising during PCR amplification [37]. To complete this overview, various isolates identified in amphibians, reptiles, fish and insects and representative of the so-designed non-mammalian and avian STs (NMASTs) could also greatly expand the molecular heterogeneity observed in this genus [3,4,38]. Among all the STs identified, only 12 (ST1 to ST9, ST10, ST12 and ST14) were so far isolated from human stool with varying prevalence [10,39–41]. Indeed, ST1 to ST4 comprise more than 90% of all

subtyped isolates around the world, with ST3 predominating in most countries [17,39]. On the other hand, the remaining STs are much more infrequent in the human population and with the exception of ST9, are likely the result of zoonotic transmission. Strong evidence is for instance supporting the zoonotic transmission of *Blastocystis* sp. ST5 and ST6 which are frequently harbored by hoofed animals and birds, respectively [42]. Indeed, isolates presenting identical sequences were shown to be shared by pigs and piggery workers for ST5 [43] and by chicken and slaughterhouse staff members for ST6 [44], in link with repeated and close contact with infected animals.

Despite the current status of *Blastocystis* sp. in terms of public health importance, its molecular epidemiology and circulation in Africa remains poorly investigated while populations of most African countries classified in majority as low-income countries are at high risk of parasitic infections mainly due to a lack of water sanitation. Accordingly, existing data on the prevalence of *Blastocystis* sp. in some of these countries, such as Senegal [10] and Nigeria [45] in West Africa, Cameroon [9] in Central Africa or Madagascar [46] in Southern Africa, revealed a high prevalence of over 60% in the corresponding populations. In other Western African countries such as Guinea, no molecular data on the prevalence and ST distribution of *Blastocystis* sp. were yet available. Therefore, the first epidemiological survey ever performed in this country was conducted on a large panel of 500 patients followed for different pathologies in two hospitals of Conakry and screened by real time Polymerase Chain Reaction (qPCR) for the detection of *Blastocystis* sp. The aim of the present study was thus to characterize the prevalence and STs of *Blastocystis* sp. in the Guinean population, then identify sources and modes of transmission of the parasite within this community.

Materials and Methods

Ethics Approval

The present on-site study in the Conakry area was approved by the National Ethics Committee on Health Research (CNER) of Guinea (reference number 170/CNER/20; date of approval: 24 December 2020). This study was conducted in accordance with the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki III) and with the International Ethical Guidelines for Biological Research Involving Human Subjects. After a clear explanation of the research objectives prior to enrolment, written informed consents were obtained from each adult or from the parents or guardians of minors participating in the study.

Questionnaire Survey

A standardized questionnaire was designed to collect information about each participant including gender, age, residence place, source of drinking water (drilling, tap or mineral water), contact with domestic animals and presence of digestive symptoms (i.e., diarrhea, abdominal pain, vomiting, bloating and constipation). A participant was considered symptomatic if at least one of the five selected digestive disorders described above was present. The subjects' data were fully anonymized through the encryption of the identity of individuals.

Sampling Sites and Collection of Samples

This large-scale study was conducted in Conakry (geographical coordinates: latitude 9°32'16" N, longitude 13°40'38" W), the capital and largest city of Guinea, West Africa, with an estimated population of about 2,300,000 people (Figure 1). Conakry borders the Atlantic Ocean and is settled on Tombo Island, with the growing city spreading up the neighboring Kaloum Peninsula (36 km long and 0.2 to 6 km wide). The present study involved 2 hospitals of Conakry separated by ~15 km. The first and southernmost situated on the Tombo Island was the National Hospital Ignace Deen (NHID). The second one located in the north of the Conakry agglomeration on the Kaloum Peninsula was the Confessional Health Center Anastasis (CHCA). This survey was completed between January and March 2021. This period of the year corresponded to the dry season (January to April) under tropical monsoon climate. At this season, almost no precipitation falls in Conakry and the daily mean temperature reaches 26 to 27 °C.

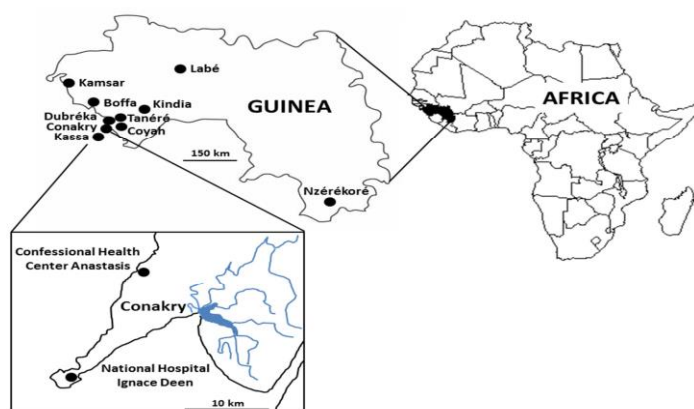


Figure 1. Map of Guinea showing the Conakry area where the study was conducted and the residence of the subjects enrolled in this study; the black box frames the two sites of participating hospitals: Confessional Health Center Anastasis and National Hospital Ignace Deen of Conakry.

Briefly, a cohort of 500 patients followed up at the two hospitals for different pathologies, with/without gastrointestinal symptoms, were enrolled (Table 1). A total of 250 stool samples (1 sample per patient) were collected at each participating center during routine clinical procedures. The majority of the subjects participating in this study (81.0%, 405/500) lived in Conakry while the other participants came from towns in the suburbs of Conakry, such as Coyah (2 subjects), Tanéré (1), Kassa (1) and Dubréka (12) or from towns farther away, such as Kindia (74), Boffa (1), Kamsar (2), Labé (1) and Nzérékoré (1). The significant number of subjects followed in CHCA and living in Kindia could easily be explained by the proximity of this hospital to this city.

Table 1. Distribution of participants according to their place of residence and the attendance to the two selected hospitals.

Residence Place	Confessional Health Center Anastasis	National Hospital Ignace Deen	Total
Boffa	0	1	1
Conakry	177	228	405
Coyah	0	2	2
Dubréka	0	12	12
Kamsar	0	2	2
Kassa	0	1	1
Kindia	72	2	74
Labé	0	1	1
Nzérékoré	1	0	1
Tanéré	0	1	1
Total	250	250	500

For each participant, around 2 g of fresh stools was gathered and then homogenized by shaking in 2 mL of 2.5% potassium dichromate (w/v in water) (Sigma Life Sciences, Saint-Louis, MO, USA) in a sterile tube. All samples were stored at 4 °C and then transported to the Institut Pasteur of Lille (France) for DNA extraction and molecular screening and subtyping of *Blastocystis* sp.

DNA Extraction and Molecular Subtyping of Blastocystis sp. Isolates

For the detection of *Blastocystis* sp., 1 mL of stool diluted in potassium dichromate was centrifuged, then washed 3 times for 10 min at 3000 g with water. The resulting pellet was diluted in 500 µL of water, then used for total genomic DNA extraction using the NucleoSpin 96 Soil kit or NucleoSpin Soil, Mini kit for DNA from Soil (Macherey-Nagel GmbH & Co KG, Düren, Germany) according to the manufacturer's recommendation. DNA was eluted in 100 µL of elution buffer provided in the DNA extraction kits and stored at -20 °C until further processing. For each sample tested, 2 µL of the obtained DNA templates was examined for the presence of the parasite by qPCR using the *Blastocystis*-specific primers BL18SPPF1 (5'-AGTAGTCATACGCTCGTCTCAAA-3') and BL18SR2PP (5'-TCTTCGTTACCCGTTACTGC-3') as described [47]. The amplified fragment of approximately 300 bp length of the SSU rDNA gene has been shown to contain sufficient sequence information for accurate subtyping of *Blastocystis* sp. isolates [10,13,38,41,44]. Both positive (DNA obtained from *Blastocystis* sp. ST8 axenic culture) and negative (DNA matrix replaced by water) qPCR controls were included. The positive qPCR products were purified and directly sequenced in both directions (Genoscreen, Lille, France; SANGER technology platform, 3730XL DNA Analyzer). In case of sequence chromatograms with double traces suggesting infections by at least two different *Blastocystis* STs, the corresponding STs were not determined and these positive samples were considered as mixed infections. The SSU rDNA sequences obtained in this study were deposited in GenBank under accession numbers OM038693 to OM038983. The STs of the new sequences were identified by determining the exact match or closest similarity against all *Blastocystis* sp. homologous sequences of known STs available from the National Centre for Biotechnology Information (NCBI) using the nucleotide Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) program. Additionally, the sequences of *Blastocystis* sp. isolates belonging to ST1, ST2 or ST3 were aligned with each other using the BioEdit v7.0.1 package (date of release 10 June 2019; <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>, accessed on 12 January 2022) to determine intra-ST diversity and identify so-called genotypes referring to genetically distinct strains within the same ST [10,41].

Statistical Analysis

For the statistical analysis, Fisher's exact test was used to test the relationship between different categorical variables. Multilevel logistic mixed regression models were created to calculate odds ratios (OR) and 95% confidence interval (CI) considering *Blastocystis* sp.

colonization, STs and genotypes as the main outcomes. The general significance level was set at a p -value below 0.05. All analyses were performed using packages stats and oddsratio 2.0.1 from the R statistical computing program (Version 4.1.1, date of release 8 October 2021; R Development Core Team, <http://www.R-project.org>, accessed on 12 January 2022).

Results

Analysis of the Cohort of Guinean Subjects, Prevalence and Risk Factors Associated to Blastocystis sp. Infection

Stool samples were obtained randomly from 250 male and 250 female patients (sex ratio M/F of 1.0) and the age of participants ranged from 1 to 83 years (mean age of 26 ± 17 years). Among this cohort, 433 subjects (86.6%) were considered symptomatic since they presented at least one of the 5 selected digestive symptoms. Abdominal pain was by far the most frequent digestive disorder among symptomatic patients (380/433, 87.8%), followed by constipation (133/433, 30.7%), diarrhea (58/433, 13.4%) and vomiting (18/433, 4.2%). No patient complained of bloating. The remaining 67 individuals (13.4%) were identified as asymptomatic at the time of the study. Of the 500 stool samples tested by qPCR, the overall prevalence of *Blastocystis* sp. was shown to be 78.0% (390/500) (Table 2). By analyzing the data separately for each hospital, the average prevalence observed in the CHEA (77.6%) was not significantly different to that determined in the NHID (78.4%) (Fisher exact test, $p = 0.9141$). Considering only the 2 more frequent places of residence of the patients that were Conakry (405 patients and 77.5% of positive participants) and Kindia (74 subjects and 79.7% of positive subjects), no significant risk for parasite infection was found associated to these towns of residence (OR: 0.913, CI:0.504-1.585, $p = 0.755$ and OR:1.145, CI:0.635-2.176, $p = 0.665$, respectively).

Table 2. Prevalence and ST distribution of *Blastocystis* sp. in the two Guinean hospitals screened in the present study.

Hospitals	Samples (n)	Positive Samples (n)	Prevalence (%)	<i>Blastocystis</i> sp. STs					
				ST1	ST2	ST3	ST4	ST14	MI ^a
Confessional Health Center Anastasis	250	194	77.6%	62	27	49	1	7	48
National Hospital Ignace Deen	250	196	78.4%	34	39	68	1	3	51
Total	500	390	78.0%	96	66	117	2	10	99

^a MI, Mixed infections.

Within the global cohort, the difference of prevalence observed between males (196/250, 78.4%) and females (194/250, 77.6%) was not significant (Fisher exact test, $p = 0.914$). In parallel, the age subgroup analysis showed that the prevalence of *Blastocystis* sp. was 80.6% (162/201) in the group aged 0–18 years, 83.0% (93/112) among subjects aged 19–30 years, and 72.2% (135/187) in patients aged over 30 years. Multilevel logistic mixed regression model revealed that patients over 30 years had significantly less risk of being colonized by *Blastocystis* sp. (OR: 0.59, CI: 0.385–0.908, $p = 0.016$) compared to the 0–18 and 19–30 years subgroups. The analysis also showed that contact with animals was not a risk factor associated with the presence of *Blastocystis* sp. (Fisher exact test, $p = 0.285$). In contrast, drinking water consumption represented a significant risk factor for infection since drinking water consumers had 2 times higher risk of *Blastocystis* sp. infection than non-consumers (82.0% of positive subjects versus 71.2%; OR: 1.838, CI: 1.196–2.825, $p = 0.005$). Additionally, consumption of tap water (Fisher exact test, $p = 0.746$) or mineral water (Fisher exact test, $p = 0.914$) were not shown to be protective factors against *Blastocystis* sp. infection among examined patients. Regarding parasite infection and digestive symptoms, the prevalence of *Blastocystis* sp. was not reported to be significantly higher in symptomatic patients than in asymptomatic carriers (78.1% versus 77.6%; Fisher exact test, $p = 1.000$). Similarly, the parasite was not identified more frequently in subjects presenting one of the digestive symptoms reported in more than 20 individuals, whether it was abdominal pain (77.9 versus 78.3% in asymptomatic participants; Fisher exact test, $p = 0.919$), diarrhea (75.9 versus 78.3%; Fisher exact test, $p = 0.736$), or constipation (76.7 versus 78.5%; Fisher exact test, $p = 0.714$).

Distribution of Blastocystis sp. STs

Among the 390 positive samples, 99 of them (25.4%) were shown to correspond to mixed infections through the identification of double traces on the respective sequence chromatograms (Table 2). This proportion of mixed infections was very similar between the two hospitals (24.7% for the CHCA versus 26.0% for the NHID). The remaining 291 positive samples represented infections by a single ST. Among this latter group of patients, ST3 was predominant (117/291, 40.2%) followed by ST1 (96/291, 33.0%), ST2 (66/291, 22.7%) and ST14 (10/291, 3.4%). ST4 was identified in only two participants (2/291, 0.7%). In total, 5 different STs were detected in this Guinean cohort and found in each of the hospitals with

varying prevalence. Indeed, the distribution of predominant *Blastocystis* sp. STs (ST1 to ST3) varied widely between the two hospitals since the risk of ST1 infection was significantly lower in the NHID than in the CHCA (17.3% of the single infections versus 42.5%; OR: 0.447, CI: 0.275–0.716, $p = 0.001$) while the risk of ST3 infection was almost two times higher in the NHID (46.9 versus 33.6%; OR: 1.572, CI: 1.017–2.443, $p = 0.042$). Moreover, although ST2 was also more frequently identified in the NHID than in the CHCA (26.9 versus 18.5%), there was not more risk of being infected in one hospital compared to the other one (OR: 1.536, CI: 0.902–2.650, $p = 0.117$). Additionally, considering the two most frequent cities of residence, subjects from Kindia were significantly more at risk of being carriers of *Blastocystis* sp. ST1 than those from Conakry (39.0% versus 22.0%; OR: 2.269, CI: 1.249–4.064, $p = 0.006$) (Table 3). Moreover, there were not significant differences between the residents of Kindia and Conakry concerning the colonization by ST2 (19.0 versus 17.2%; OR: 1.103, CI: 0.516–2.195, $p = 0.788$) or ST3 (22.4 versus 31.8%; OR: 0.605, CI: 0.302–1.140, $p = 0.135$).

Table 3. Prevalence and ST distribution of *Blastocystis* sp. according to the residence place of participants.

Residence Place	Samples (n)	Positive Samples (n)	<i>Blastocystis</i> sp. STs					
			ST1	ST2	ST3	ST4	ST14	MI ^a
Boffa	1	1	0	0	1	0	0	0
Conakry	405	314	69	54	100	1	10	80
Coyah	2	2	0	0	2	0	0	0
Dubreka	12	9	2	1	0	0	0	6
Kamsar	2	1	0	0	0	0	0	1
Kassa	1	1	0	0	1	0	0	0
Kindia	74	59	23	11	13	1	0	11
Labé	1	1	1	0	0	0	0	0
Nzérékoré	1	1	0	0	0	0	0	1
Tanéré	1	1	1	0	0	0	0	0
Total	500	390	96	66	117	2	10	99

^a MI, Mixed infections.

The distribution of STs was not significantly associated with the sex of the participants (Fisher exact test, $p = 0.737$) in contrast with age. Indeed, analysis of the subjects revealed that ST1 was more frequently reported in the group aged 0-18 years (OR: 2.092, CI: 1.314–3.348, $p = 0.002$) and less commonly found in patients aged over 30 years (OR: 0.476, CI: 0.275–0.798, $p = 0.006$). On the other hand, no significant difference of prevalence of either ST2 (Fisher exact test, $p = 0.119$) or ST3 (Fisher exact test, $p = 0.301$) was demonstrated between age groups. Regarding drinking water, our data showed that mineral water

consumers were significantly less colonized by ST1 (OR: 0.528; CI: 0.329–0.84, $p = 0.007$) as were those drinking tap water (OR: 0.397; CI: 0.245–0.634, $p = 0.0001$). In contrast, the risk of ST2 infection increased twofold in the group of patients drinking drill water (OR: 2.335; CI: 1.257–4.633, $p = 0.01$). No significant association was detected between ST1 (OR: 0.628, CI: 0.338–1.204, $p = 0.149$), ST2 (OR: 1.139, CI: 0.534–2.725, $p = 0.751$) or ST3 (OR: 1.066, CI: 0.570–2.082, $p = 0.845$) and the symptomatic status of the Guinean subjects as well as between each of these STs and digestive symptoms, including abdominal pain (Fisher exact test, $p = 0.926$), constipation (Fisher exact test, $p = 0.766$), and diarrhea (Fisher exact test, $p = 0.760$).

Identification of Blastocystis sp. Genotypes and Analysis of Intra-ST Diversity

All the partial SSU rDNA gene sequences belonging to each of the three main STs, ST1 to ST3, were aligned with each other to identify genotypes and evaluate intra ST diversity. Regarding ST1, the 96 sequences obtained in the present study exhibited 95.5 to 100% identity between them. Through the alignment of these latter sequences, a total of 20 positions showing at least one nucleotide difference within at least one of the compared sequences, was highlighted. In total, 27 genotypes so-called ST1-1 to ST1-27 (Figure 2A) were identified. The majority of these ST1 genotypes (21 of 27) was represented by 1 or 2 isolates. However, 4 of these genotypes (ST1-4, ST1-11, ST1-21 and ST1-24) accounted for nearly 65% of the ST1 isolates. About ST2, 17 variable positions were identified from the sequence alignment of the 66 isolates exhibiting 96.5 to 100% identity, leading to the characterization of 18 genotypes (ST2-1 to ST2-18) (Figure 2B). As for ST1, most of the ST2 genotypes included 1 or 2 isolates and few other genotypes (ST2-3 and ST2-4) were predominant (more than 65% of the ST2 isolates). In the case of the 117 ST3 isolates, their corresponding SSU rDNA gene sequences showed 98.6 to 100% identity between them and 17 variable positions were reported from the alignment, leading to the identification of 15 genotypes (ST3-1 to ST3-15) (Figure 2C). Two of them (ST3-1 and ST3-9) were overabundant by including more than 75% of the ST3 isolates, the others genotypes being largely less represented. By calculating the ratio between the number of isolates and the number of genotypes for each ST, we revealed an average of 3.6 isolates per ST1 genotype (96/27), 3.7 isolates per ST2 genotype (66/18) and 7.8 isolates per ST3 genotype (117/15).

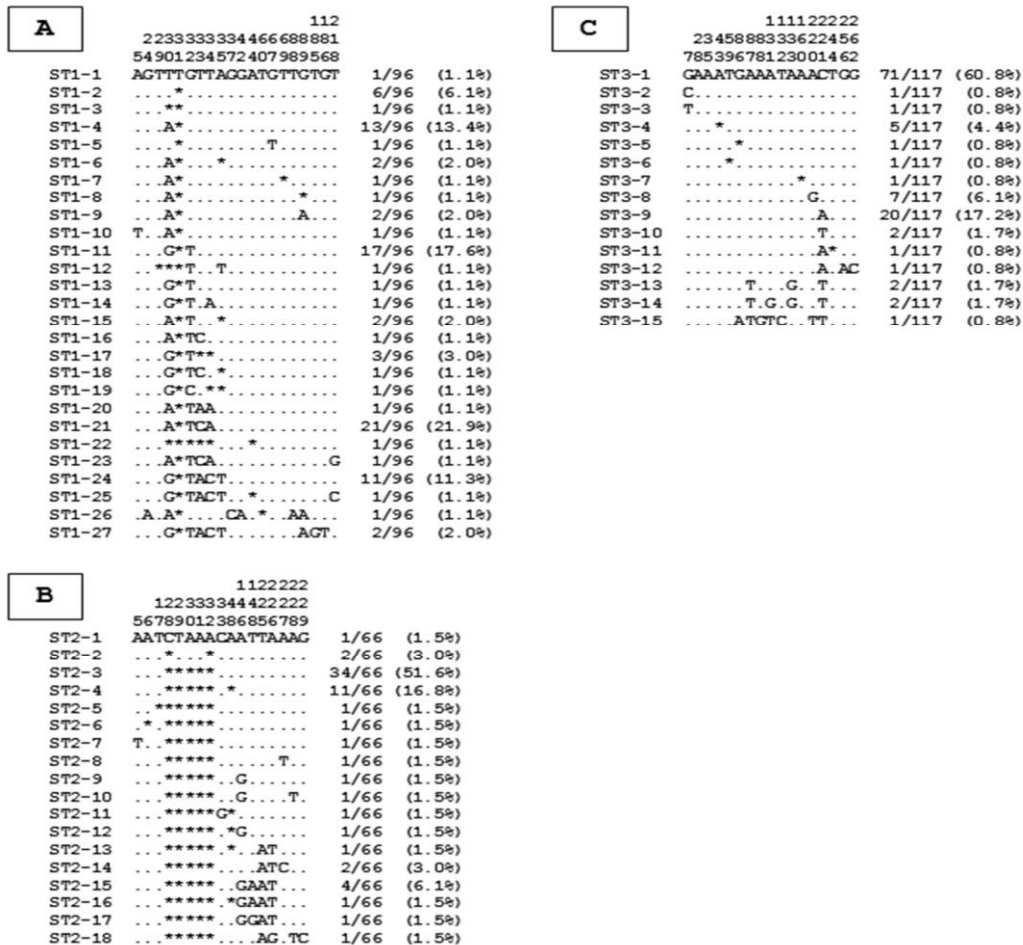


Figure 2. Alignment of partial SSU rDNA gene sequences from *Blastocystis* sp. ST1 (A), ST2 (B), and ST3 (C) isolates. Only the variable positions identified in the compared domain of the SSU rDNA gene for these three STs highlighted as largely predominant in the present survey are shown in this alignment. The positions of variable positions with respect to the reference sequences (genotypes ST1-1, ST2-1 and ST3-1) are indicated above the alignment (vertical numbering). Nucleotides identical to those of the reference sequences are represented by dashes and gaps are represented by asterisks. All the genotypes identified for each ST are indicated on the left of the alignment. On the right of the alignment are reported the total number and percentage of isolates identified in our study for each genotype.

Between the 2 compared hospitals, the number of genotypes identified was roughly similar since a total of 34 genotypes (10 ST1, 13 ST2 and 11 ST3 genotypes) was reported in the NHID versus 39 (22 ST1, 8 ST2 and 9 ST3 genotypes) in the CHEA. Moreover, as numerous genotypes included 1 or 2 isolates, only 13 genotypes (ST1-2, ST1-4, ST1-11, ST1-21, ST1-24,

ST2-3, ST2-4, ST2-15, ST3-1, ST3-4, ST3-8, ST3-9 and ST3-10), most of them overrepresented in the present survey were shared in both hospitals. Despite the large number of genotypes identified, only one of them, ST1-4 showed relevant variations in prevalence according to different factors since it was less frequently reported in patients followed at the NHID (OR: 0.158, CI: 0.024–0.609, $p = 0.019$), in symptomatic subjects (OR: 0.239, CI: 0.073–0.844, $p = 0.019$), in participants presenting abdominal pain (OR: 0.322, CI: 0.101–1.05, $p = 0.052$) or drinking tap water (OR: 0.158, CI: 0.024–0.609, $p = 0.018$). In contrast, the risk of ST1-4 infection was higher among people living in Kindia than in Conakry (OR: 10.4, CI: 3.210–36.900, $p = 0.0001$) and in subjects with animal contact (OR: 6.276, CI: 1.953–20.818, $p = 0.002$). The risk of infection with a second genotype, ST3-1 was also significantly higher in adults over 30 years than in the other age groups (OR: 2.375, CI: 1.294–4.392, $p = 0.005$). Concerning the other STs identified in our study with lower frequencies such as ST4, the sequences of the 2 isolates exhibited 99.3% identity (2 variable positions). About the 10 ST14 isolates, the corresponding sequences showed 99.6 to 100% identity between them (only 1 variable position).

Discussion

To our knowledge, the present survey performed in Guinea represents the second largest epidemiological study conducted to date in Africa on *Blastocystis* sp. in terms of the number of subtyped isolates (291 in total herein) after the one recently conducted in Senegal [10], thus providing a significant new contribution to our understanding of the prevalence and circulation of this intestinal protozoan in African developing countries. Through the screening by qPCR of fecal samples from 500 individuals followed in two hospitals of Conakry, a prevalence of *Blastocystis* sp. of as much as 78% has been reported, highlighting the active circulation of this parasite in this geographical area. The burden of *Blastocystis* sp. in the Guinean population was all the more significantly relevant if we consider that the sampling was carried out during the dry season (winter) and not over the rainy season (summer), which is known for facilitating the transmission of this waterborne parasite [48]. In addition, for practical reasons only a single stool sample per individual was screened, instead of the ideal three consecutive samples needed for reliable detection of this parasite with irregular shedding [49]. All epidemiological data collected in this survey were compared with those obtained only by molecular assays in other countries and regions of Africa (Table 4). Indeed,

it is known that findings recorded from non-molecular diagnostic methods greatly underestimate the prevalence of *Blastocystis* sp. [47,50]. West Africa is the African region gathering most prevalence data, as several studies have been conducted in Côte d'Ivoire with a prevalence ranging from 58.2% to 87% [48,51,52], in Nigeria with a prevalence of 49% [39], 84% [45] and 55% [53], in Liberia with a prevalence of around 70% [39], in Senegal with a prevalence of 80.4% in the Saint-Louis area [39] and 100% in Podor district [8] and in Mali with a prevalence of 49.7% [54].

Regarding other African regions, the number of studies is extremely limited with very few countries investigated. In Central Africa, the prevalence of *Blastocystis* sp. remains quite low in Angola since it is about 25% [55] but largely higher in Cameroon by exceeding 75% in two separate surveys [9,28]. In East Africa, four studies were conducted in Tanzania revealing prevalence comprised between 53% and 81.8% [9,24,50,53], depending of the geographical area. One of these studies also included a Sudanese cohort with a prevalence of *Blastocystis* sp. reaching 47% [53]. In Southern Africa, three studies were performed in Madagascar, Mozambique and Malawi showing a parasite prevalence of 64.5% [46], 14% [56] and 69.6% [57], respectively. In North Africa, no less than 15 molecular studies have been referenced in the literature (Table 4), but only one of them, conducted in Libya, provided a parasite frequency with a value of about 28% [39]. Globally, and even though substantial differences in prevalence rates may occur between countries, such as between Senegal and Mali in West Africa, or even in the same country, such as in Nigeria or Tanzania, that could be attributed to different factors including climatic factors, environmental hygiene and socio-economic conditions among others, the majority of the African surveys emphasized a parasite prevalence of around or well over 50%, in correlation with the frequency observed in Guinea. In comparison, the prevalence of *Blastocystis* sp. is significantly much lower in high-income nations including, for instance, Western [15] and Eastern [13,14,58] European countries, exhibiting an average prevalence ranging between 15 and 25%. Therefore, the significant prevalence values of *Blastocystis* sp. reported in African developing countries are undoubtedly associated with fecal peril in link with precarious sanitary and hygiene conditions and poor quality of drinking water.

Table 4. Prevalence and ST distribution of *Blastocystis* sp. in African countries (completed from [10]).

African Region/Countries	Prevalence	Number of Subtyped Isolates	Subtyping Method	<i>Blastocystis</i> sp. STs										Mixed Infections ^d	Reference
				ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7	ST10	ST14			
North Africa															
Tunisia	NA ^a	61	Sequencing	18	10	31	1	0	0	1	0	0	0	[59]	
Libya	28.0%	38	Sequencing	19	3	15	0	0	0	1	0	0	0	[39]	
Libya	NA ^a	48	Sequencing	26	13	9	0	0	0	0	0	0	0	[60]	
Egypt	NA ^a	36	PCR-STs ^b	6	0	30	0	0	0	0	0	0	0	[61]	
Egypt	NA ^a	110	PCR-STs ^b	15	0	49	0	0	33	13	0	0	0	[62]	
Egypt	NA ^a	33	Sequencing	0	0	33	0	0	0	0	0	0	0	[63]	
Egypt	NA ^a	21	Sequencing	4	4	13	0	0	0	0	0	0	0	[64]	
Egypt	NA ^a	44	PCR-STs ^b	8	0	24	0	0	8	4	0	0	0	[65]	
Egypt	NA ^a	22	Sequencing	4	0	18	0	0	0	0	0	0	0	[66]	
Egypt	NA ^a	53	PCR-STs ^b	16	4	30	3	0	0	0	0	0	0	[67]	
Egypt	NA ^a	100	RFLP ^c	0	0	84	16	0	0	0	0	0	0	[68]	
Egypt	NA ^a	2	PCR-STs ^b	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	[69]	
Egypt	NA ^a	51	PCR-STs	9	2	40	0	0	0	0	0	0	0	[70]	
Egypt	NA ^a	6	Sequencing	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0	[71]	
Algeria	NA ^a	3	Sequencing	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	[72]	
Total		628		128	41	379	20	0	41	19	0	0	0		
West Africa															
Nigeria	84.0%	127	Sequencing	51	42	33	0	0	0	1	0	0	0	[45]	
Nigeria	49.0%	22	Sequencing	10	0	9	3	0	0	0	0	0	1	[39]	
Nigeria	55.0%	18	Sequencing	8	4	5	0	0	1	0	0	0	0	[53]	
Côte d'Ivoire	58.2%	64	Sequencing	32	14	18	0	0	0	0	0	0	0	[48]	
Côte d'Ivoire	70.0%	0	NA ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	[51]	
Côte d'Ivoire	87.0%	0	NA ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	[52]	
Liberia	70.0%	25	Sequencing	7	7	8	3	0	0	0	0	0	5	[39]	
Senegal	80.4%	453	Sequencing	113	226	107	0	0	0	3	2	2	135	[10]	
Senegal	100%	103	Sequencing	29	21	51	2	0	0	0	0	0	0	[8]	
Mali	49.7%	0	NA ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	[54]	
Guinea	78.0%	291	Sequencing	96	66	117	2	0	0	0	0	10	99	Present study	
Total		1103		346	380	348	10	0	1	4	2	12	240		

Table 4. Cont.

African Region/Countries	Prevalence	Number of Subtyped Isolates	Subtyping Method	<i>Blastocystis</i> sp. STs										Mixed Infections ^d	Reference
				ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7	ST10	ST14			
Central Africa															
Angola	25.6%	75	Sequencing	23	23	27	0	1	0	1	0	0	0	[55]	
Cameroon	88.2%	65	Sequencing	23	9	33	0	0	0	0	0	0	0	[9]	
Cameroon	75.4%	135	Metagenomics	45	32	57	1	0	0	0	0	0	0	[28]	
Total		275		91	64	117	1	1	0	1	0	0	0		
East Africa															
Tanzania	81.8%	34	Metagenomics	11	13	10	0	0	0	0	0	0	0	[9]	
Tanzania	55.6%	15	Metagenomics	1	12	2	0	0	0	0	0	0	0	[24]	
Tanzania	60.9%	92	Sequencing	36	28	27	0	0	0	1	0	0	0	[50]	
Tanzania	NA ^a	6	Sequencing	1	3	2	0	0	0	0	0	0	0	[73]	
Tanzania	53.0%	8	Sequencing	2	2	4	0	0	0	0	0	0	0	[53]	
Sudan	47.0%	29	Sequencing	14	5	10	0	0	0	0	0	0	0	[53]	
Total		184		65	63	55	0	0	0	1	0	0	0		
Southern Africa															
Madagascar	64.5%	158	Sequencing	80	36	42	0	0	0	0	0	0	13	[46]	
Mozambique	14.1%	154	Sequencing	35	35	70	14	0	0	0	0	0	0	[56]	
Malawi	69.6%	25	Metagenomics	7	6	12	0	0	0	0	0	0	0	[57]	
Total		337		122	77	124	14	0	0	0	0	0	13		
Grand total		2527		752	625	1023	45	1	42	25	2	12	253		

^a NA, not applicable. ^b STS, subtype-specific sequence-tagged site. ^c RFLP, restriction fragment length polymorphism. ^d Mixed infections with undetermined STs.

These findings highlight the importance of screening the presence of this parasite in other not yet documented countries, to better estimate its burden among the global African population. As examples among others, *Blastocystis* sp. would be by far the most common intestinal protist in Algeria (prevalence of 57.3 and 43.8% in two separate studies) [74,75], Morocco (64.0%) [76] and Zambia (53.8%) [77], based solely on non-molecular methods of detection (microscopic analysis of stools supplemented or not by concentration and staining). Interestingly, and even though the composition of the cohorts in each of the two Guinean hospitals was slightly different, particularly in terms of the place of residence of the participants as almost all individuals living in Kindia were followed in the CHCA (70/72), the prevalence of *Blastocystis* sp. was very similar between these two health centers, suggesting an intense circulation of the parasite in Conakry as well as in the close periphery of the Guinean capital. Among the overall Guinean cohort, gender and contact with animals were

not identified as risk factors for infection by *Blastocystis* sp. In contrast, the prevalence of the parasite was higher in the age classes 0–18 and 19–30 years (more than 80% in both classes) in comparison to individuals over 30 years (~70%). Conflicting results regarding the frequency of *Blastocystis* sp. according to age were reported in the literature as for instance in African countries. No significant difference in prevalence among age classes was thus observed in Côte d'Ivoire [48], while the frequency of the parasite increased significantly with age in Tanzania [50] as in Nigeria [45] but only within children aged 2–14 years in this latter survey. All of these data were thus not consistent with the results of the present study revealing a higher prevalence in younger participants. This distribution in the Guinean population with a higher prevalence in the group 0–18 years old could likely be explained by inappropriate hygiene practices of younger individuals, such as lack of hand washing before meals or after toilet use, fingernail cleanliness, open filed defecation or playing in contaminated water leading to possible frequent reinfections through different sources. Moreover, promiscuity in schools represents an additional factor facilitating the transmission of the parasite within younger participants. Regarding the lower frequency of *Blastocystis* sp. in the group over 30 years, it could be due to the better understanding and application of personal hygiene measures by adults.

The findings of this study also suggest that the consumption of untreated drill water is significantly associated with increased odds of *Blastocystis* infection. This is logical considering that water could be a major source of infection by this waterborne parasite as described in other African countries [45]. Unexpectedly, the consumption of mineral water was not a protective factor against *Blastocystis* sp. infection, which contradicted observations recorded, for instance, in Nigeria, where the prevalence of the parasite was significantly lower among consumers of sachet water than among those drinking water collected from wells [45]. This could be attributed to the fact that mineral water is likely not the only source of consumption of Guinean participants, especially outside the home. Tap water supply was also not protective against parasite infection in the Guinean cohort probably in link with inadequate treatment of water for human consumption. However, when considering risk factors for each ST, mineral water and tap water consumers were significantly protected of being colonized by ST1. Interestingly, *Blastocystis* sp. was not more prevalent in the symptomatic group as also in patients presenting digestive symptoms, including diarrhea, abdominal pain or constipation. The present survey together with others previously conducted in various African countries,

including Madagascar [46], Tanzania [50] and Côte d'Ivoire [48], did not reveal any clear association between *Blastocystis* sp. infection and gastrointestinal disorders, raising again the question of the real pathogenic potential of this parasite, at least for a majority of the isolates, as previously discussed in details [18]. However, such a correlation can scarcely be demonstrated in surveys conducted in African countries whose populations are often co-colonized with other intestinal protozoa (*Giardia*, *Cryptosporidium* and *Entamoeba*, among others) [46,50,51,52] that can cause the same digestive symptoms as those associated with *Blastocystis* sp. infection.

As stated above, 99 of the 390 positive samples screened herein corresponded to mixed infections. This proportion (~25%) was similar to that reported in a neighboring country such as Senegal (23%) [10]. The remaining Guinean participants presenting single infections were colonized by ST3 (40.2% of the subtyped isolates), ST1 (33.0%), ST2 (22.7%), ST14 (3.4%) and ST4 (0.7%). In West Africa, the three main STs globally exhibit rather similar frequencies, with a slight predominance of ST2 (Table 4). The situation in terms of prevalence of the three main STs is more or less the same in East Africa, with a moderate higher prevalence of ST1. In Southern Africa, the prevalence of ST1 and ST3 are almost identical while ST2 is much less frequent. In contrast, ST3 is largely predominant in North Africa and to a lesser extent in Central Africa. Due to the still limited number of surveys and subtyped isolates in most of the African regions, these observations only correspond to tendencies most often associated with non-significant differences in ST frequencies, the only possible exception being the Maghreb where ST3 prevalence is far ahead of those of the other main STs. Indeed, extensive variations in the distribution of STs were documented within a same country, as in Nigeria [39,45] or Senegal [8,10], which are certainly related to different sources of transmission of the parasite. On the other hand, this distribution was similar in two Cameroonian cohorts [9,28] even though the respective studies were conducted in different geographical regions and among populations presenting various subsistence modes. In the present study, a significant variation in the distribution of STs was also observed between the two hospitals of Conakry highlighted by a higher prevalence of ST3 and lower frequency of ST1 in the NHID. This variation could probably be explained in part by the difference in the composition of the two hospital cohorts regarding the participants' place of residence since the large majority of subjects living in Kindia were followed in the CHCA and significantly more colonized with ST1 than the inhabitants of Conakry.

Knowing which *Blastocystis* sp. STs circulate in Guinea may provide evidence of the pathways involved in transmission. According to our present data, ST1, ST2, and ST3 isolates represent the large majority of isolates identified in Guinea (95.9%) as more globally in Africa (2400/2527, 95.0%) (Table 4). These three STs can also be found in various groups of animals with varying frequency [42]. However, they predominantly colonize humans, irrespectively of the geographical origin of the population as reported in Europe, America or Asia [16,17,39], reflecting thus a large-scale human-to-human transmission of these STs. This was also strongly suggested herein in the Guinean cohort as in previous surveys conducted in different African countries [10]. In contrast, ST4 was identified at a much lower rate in the Guinean population since only two ST4 isolates were reported (0.7%). Interestingly, only 45 isolates of ST4 have been recorded in Africa out of the 2527 isolates subtyped so far on this continent (Table 3), i.e., barely 1.8% of the total number of African isolates. In comparison, this ST is frequently found, particularly in Europe where it can reach a prevalence of ~20% [13,14,39,47]. This geographically restricted pattern of ST4 thus tends to confirm the hypothesis of the recent emergence of ST4 in the European population [16], probably through zoonotic transmission from rodents, in which ST4 is the most common ST [42]. In this respect, nearly half of the African ST4 isolates (20/45) have been identified in the Maghreb and thus in geographical proximity to the European continent. Another interesting point of our survey was the report of ST14 isolates in a significant proportion (3.4%). Indeed, together with ST10, ST14 corresponds to the most widely distributed ST in cattle as to a lesser extent in small ruminants [42], indicating that both STs could be considered as adapted to bovid [42,78,79]. Therefore, bovid living in close proximity to dwellings likely represent zoonotic sources of ST14 colonization in the Guinean population. However, 9 of the 10 participants colonized with ST14 reported any direct contact with animals suggesting that these subjects were sporadically colonized by ST14 through the punctual consumption of water or food contaminated by bovine feces. The remaining participant declared having contact with chickens and more interestingly with sheep, which may be at the origin of this ST14 contamination. To our knowledge, this is the second report about ST14 identification in the human population, the first one concerned the infection of two school children living in rural areas in Senegal [10].

No significant difference in the distribution of *Blastocystis* sp. STs between the sexes was reported herein as shown, for instance, in Tanzania [50]. On the other hand, ST1 was more common in the youngest age group of Guinean participants but not significantly. Furthermore,

ST2 and to a lesser extent ST1 were the most common STs in subjects drinking untreated drill water, highlighting the likely waterborne transmission of a large majority of ST1 and ST2 isolates in the Conakry area. Interestingly, the transmission of these same two STs was also suggested to be mainly associated with different environmental sources in a recent study conducted in Senegal [10]. In parallel, the epidemiological data collected in Guinea failed to provide any evidence for ST association with symptomatic status or specific digestive symptoms of the subjects as also described in Côte d'Ivoire [48]. For different reasons, this correlation between ST and pathogenesis of the parasite remains globally contradictory according to numerous studies [5].

To complete our data and taking advantage of the large number of isolates subtyped in the present survey, the intra-ST variation observed within the 3 major STs identified in the Guinean population was analyzed. This analysis succeeded those recently performed in Senegal [10] and among Syrian refugees leaving in North Lebanon [41] using the same molecular marker and comparing the sequence of the same amplified domain. By first determining the genotypes for each of these 3 STs through the identification of the variable positions between sequences of isolates belonging to the same ST and, then, by establishing the ratio of the number of isolates per genotype, it was shown that ST3 exhibited the lowest intra-ST diversity followed by ST2 and ST1 in the Senegalese and Syrian cohorts [10,41]. Strikingly, a similar pattern of intra-ST diversity was highlighted for ST1 to ST3 among Guinean isolates. Moreover, the higher intra-ST variability of ST1 and ST2 compared with ST3 was also confirmed through the comparative analysis of draft genomes from various STs of *Blastocystis* sp. [24].

As stated above, a total of 60 ST1 to ST3 genotypes were identified in the Guinean population for a total of 279 isolates belonging to these 3 STs, i.e., an overall average of 4.65 isolates per genotype. In a Senegalese cohort, this number of genotypes was significantly lower (43 different genotypes) for a total of 446 isolates from ST1 to ST3 leading to a higher average ratio of 10.4 isolates per genotype [10]. This average ratio was further increased in a Syrian refugee cohort to 13.6 isolates per genotype due to the low number of identified genotypes (only 12 in total) [41]. The high number of isolates per genotype coupled to the limited number of genotypes in the Syrian cohort could be explained by sustained human-to-human transmission within this group in link with promiscuity in refugee camps and limited circulation of this population outside the informal tented settlements. In case of the

Senegalese survey, the increasing number of genotypes compared to the Syrian cohort together with the lower number of isolates per genotype suggested the existence of multiple potential sources of infection coupled with a large anthroponotic transmission. These two parameters, meaning the number of genotypes and the number of isolates per genotype, therefore represented interesting transmission markers within the populations studied. Thus, the Guinean population, with its even higher number of genotypes and lower ratio of isolates per genotype, showed active human-to-human transmission, but also, and more importantly, an even wider range of potential sources of infection than those described in Senegal. While human-to-human transmission is mainly related to ST3 since it is not frequently found in animals [42], ST1 and ST2 which represented the largest number of genotypes often including 1 or 2 isolates were likely transmitted in large part from various environmental and possibly animal reservoirs in Guinea. In this respect, ST1 was identified as the most widespread ST from various water sources in Asiatic countries [80]. Further studies will thus allow analyzing samples from these potential animal and environmental sources for the presence of the parasite.

Conclusions

This study provides the first epidemiological data on the prevalence and distribution of *Blastocystis* sp. STs in the Guinean population and further clarifies the current burden and circulation of this parasite in the African continent. The picture is of concern and the prevalence reaching 80% in Guinea simply reinforces this statement as already pointed out in other African countries. Our findings suggest that age and drill water consumption are risk factors associated with *Blastocystis* sp. infection. Even if the consumption of either mineral or tap water were not protective factors against *Blastocystis* sp., these factors were indeed associated with reduced odds of ST1 infection. The epidemiological situation in Guinea is probably correlated to the fecal peril in link with precarious hygiene and sanitary conditions encountered among the populations of these low-income countries. Moreover, the poor quality of drinking water mainly due to deficient sanitation results in the exposure of the population to multiple contaminated environmental sources, facilitating the circulation of this waterborne parasite. As in all African countries and regions, ST1, ST2 and ST3 were shown to be predominant in Guinea by representing more than 95% of the subtyped isolates. In parallel, the present study confirmed the overall scarcity of ST4 in Africa together with the low

frequency of zoonotic transmission, represented herein by ST14 isolates likely inherited from bovid. Such a distribution together with the analysis of intra-ST diversity of the three main STs identified in Guinea strongly suggested a large-scale human-to-human transmission of ST3, while ST1 and ST2 were in large part probably also spread via various environmental sources in addition to the inter-human route. Finally, this large-scale study highlighted the importance of periodic screening and public health education for effective prevention of *Blastocystis* sp. especially regarding personal hygiene. Together with improved sanitation to reduce contact with contaminated water resources, all these measures may help the health authorities to prevent or reduce the prevalence and the risks of *Blastocystis* sp. infection in this highly endemic African region.

Author Contributions

Conceptualization, T.G., G.C. and E.V.; formal analysis, T.G., N.G., J.D., F.I.C., S.C.T. and B.L.K.; funding acquisition, E.V.; investigation, T.G., N.G., J.D., E.D., C.D., M.S., M.C., G.C. and E.V.; project administration, T.G., G.C. and E.V.; resources, M.C., G.C. and E.V.; software, N.G., G.E., M.S. and E.V.; supervision, G.C. and E.V.; validation, G.C. and E.V.; writing—original draft, E.V.; writing—review and editing, T.G., N.G., G.E., M.S., M.C., G.C. and E.V. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This study was supported by the Centre National de la Recherche Scientifique, the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, the Institut Pasteur of Lille, the University of Lille, the University Catholic of Lille and the CHRU of Lille. MS was supported by a PhD fellowship from the University of Lille.

Institutional Review Board Statement

The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the National Ethics Committee on Health Research (CNERS) of Guinea (Protocole code 170/CNERS/20; Date of approval: 24 December 2020).

Informed Consent Statement

Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement

Not applicable.

Acknowledgments

The authors are grateful to all those who participated in the study, the staff of the National Hospital Ignace Deen and Confessional Health Center Anastasis for the collection and management of samples and the preparation of listings, the Institut Pasteur of Lille, especially Héloïse Cagnard and Ines Morouche for their technical assistance, and Akoi Koivogui, Noël Tambana Guilavogui, Aboubacar Sidiki Camara and Fode Camara for their valuable assistance in establishing the ethics protocol.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Boreham, P.F.L.; Stenzel, D.J. Blastocystis in humans and animals: Morphology, biology, and epizootiology. *Adv. Parasitol.* **1993**, *32*, 1–70. [Google Scholar] [PubMed]
2. Tan, K.S.W. Blastocystis in humans and animals: New insights using modern methodologies. *Vet. Parasitol.* **2004**, *126*, 121–144. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
3. Yoshikawa, H.; Koyama, Y.; Tsuchiya, E.; Takami, K. Blastocystis phylogeny among various isolates from humans to insects. *Parasitol. Int.* **2016**, *65*, 750–759. [Google Scholar] [CrossRef]
4. Cian, A.; El Safadi, D.; Osman, M.; Moriniere, R.; Gantois, N.; Benamrouz-Vanneste, S.; Delgado-Viscogliosi, P.; Guyot, K.; Li, L.L.; Monchy, S.; et al. Molecular epidemiology of Blastocystis sp. in various animal groups from two French zoos and evaluation of potential zoonotic risk. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0169659. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
5. Tan, K.S.W. New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. *Clin. Microbiol. Rev.* **2008**, *21*, 639–665. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]

6. Scanlan, P.D.; Stensvold, C.R. Blastocystis: Getting to grips with our guileful guest. *Trends Parasitol.* **2013**, *29*, 523–529. [Google Scholar] [CrossRef]
7. Yoshikawa, H.; Yoshida, K.; Nakajima, A.; Yamanari, K.; Iwatani, S.; Kimata, I. Fecal-oral transmission of the cyst form of *Blastocystis hominis* in rats. *Parasitol. Res.* **2004**, *94*, 391–396. [Google Scholar] [CrossRef]
8. El Safadi, D.; Gaayeb, L.; Meloni, D.; Cian, A.; Poirier, P.; Wawrzyniak, I.; Delbac, F.; Dabboussi, F.; Delhaes, L.; Seck, M.; et al. Children of Senegal River Basin show the highest prevalence of *Blastocystis* sp. ever observed worldwide. *BMC Infect. Dis.* **2014**, *14*, 164. [Google Scholar] [CrossRef]
9. Lokmer, A.; Cian, A.; Froment, A.; Gantois, N.; Viscogliosi, E.; Chabé, M.; Ségurel, L. Use of shotgun metagenomics for the identification of protozoa in the gut microbiota of healthy individuals from worldwide populations with various industrialization levels. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0211139. [Google Scholar] [CrossRef]
10. Khaled, S.; Gantois, N.; Tidjani Ly, A.; Senghor, S.; Even, G.; Dautel, E.; Dejager, R.; Sawant, M.; Baydoun, M.; Benamrouz-Vanneste, S.; et al. Prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. in Senegalese school children. *Microorganisms* **2020**, *8*, 1408. [Google Scholar] [CrossRef]
11. Osman, M.; El Safadi, D.; Cian, A.; Benamrouz, S.; Nourrisson, C.; Poirier, P.; Pereira, B.; Razakandrainibe, R.; Pinon, A.; Lambert, C.; et al. Prevalence and risk factors for intestinal protozoan infections with *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Blastocystis* and *Dientamoeba* among schoolchildren in Tripoli, Lebanon. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2016**, *10*, e0004496. [Google Scholar]
12. Noradilah, S.A.; Moktar, N.; Anuar, T.S.; Lee, I.L.; Salleh, F.M.; Manap, S.N.A.A.; Mohtar, N.S.H.M.; Azrul, S.M.; Abdullah, W.O.; Nordin, A.; et al. Molecular epidemiology of blastocystosis in Malaysia: Does seasonal variation play an important role in determining the distribution and risk factors of *Blastocystis* subtype infections in the Aboriginal community? *Parasit. Vectors* **2017**, *10*, 360. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
13. El Safadi, D.; Cian, A.; Nourrisson, C.; Pereira, B.; Morelle, C.; Bastien, P.; Bellanger, A.P.; Botterel, F.; Candolfi, E.; Desoubeaux, G.; et al. Prevalence, risk factors for infection and subtype distribution of the intestinal parasite *Blastocystis* sp. from a

- large-scale multi-center study in France. *BMC Infect. Dis.* **2016**, 16, 451. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
14. Muadica, A.S.; Köster, P.C.; Dashti, A.; Bailo, B.; Hernandez-de-Mingo, M.; Reh, L.; Balasegaram, S.; Verlander, N.Q.; Chercoles, E.R.; Carmena, D. Molecular diversity of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp. and *Blastocystis* sp. in asymptomatic school children in Leganés, Madrid (Spain). *Microorganisms* **2020**, 8, 466. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
 15. Lhotska, Z.; Jirku, M.; Hlozkova, O.; Brozova, K.; Jirsova, D.; Stensvold, C.R.; Kolisko, M.; Pomajbikova, K.J. A study on the prevalence and subtype diversity of the intestinal protist *Blastocystis* sp. in a gut-healthy human population in the Czech Republic. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2020**, 10, 544335. [Google Scholar] [CrossRef]
 16. Clark, C.G.; van der Giezen, M.; Alfellani, M.A.; Stensvold, C.R. Recent developments in *Blastocystis* research. *Adv. Parasitol.* **2013**, 82, 1–32. [Google Scholar]
 17. Stensvold, C.R.; Clark, C.G. Current status of *Blastocystis*: A personal view. *Parasitol. Int.* **2016**, 65, 763–771. [Google Scholar] [CrossRef]
 18. Andersen, L.O.; Stensvold, C.R. *Blastocystis* in health and disease: Are we moving from a clinical to a public health perspective? *J. Clin. Microbiol.* **2016**, 54, 524–528. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
 19. Ajjampur, S.S.; Tan, K.S.W. Pathogenic mechanisms in *Blastocystis* spp.—Interpreting results from in vitro and in vivo studies. *Parasitol Int.* **2016**, 65, 772–779. [Google Scholar] [CrossRef]
 20. Fréal, E.; El Safadi, D.; Cian, A.; Aubry, E.; Certad, G.; Osman, M.; Wacrenier, A.; Dutoit, E.; Creusy, C.; Dubos, F.; et al. Acute *Blastocystis*-associated appendicular peritonitis in a child, Casablanca, Morocco. *Emerg. Infect. Dis.* **2015**, 21, 91–94. [Google Scholar] [CrossRef]
 21. Denoeud, F.; Roussel, M.; Noel, B.; Wawrzyniak, I.; Da Silva, C.; Diogon, M.; Viscogliosi, E.; Brochier-Armanet, C.; Couloux, A.; Poulain, J.; et al. Genome sequence of the stramenopile *Blastocystis*, a human anaerobic parasite. *Genome Biol.* **2011**, 12, R29. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
 22. Wawrzyniak, I.; Courtine, D.; Osman, M.; Hubans-Pierlot, C.; Cian, A.; Nourrisson, C.; Chabé, M.; Poirier, P.; Bart, A.; Polonais, V.; et al. Draft genome sequence of the

- intestinal parasite *Blastocystis* subtype 4-isolate WR1. *Genom. Data* **2015**, 4, 22–23. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
23. Gentekaki, E.; Curtis, B.A.; Stairs, C.W.; Klimes, V.; Eliás, M.; Salas-Leiva, D.E.; Herman, E.K.; Eme, L.; Arias, M.C.; Henrissat, B.; et al. Extreme genome diversity in the hyper-prevalent parasitic eukaryote *Blastocystis*. *PLoS Biol.* **2017**, 15, e2003769. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
24. Beghini, F.; Pasolli, E.; Truong, T.D.; Putignani, L.; Caccio, S.M.; Segata, N. Large-scale comparative metagenomics of *Blastocystis*, a common member of the human gut microbiome. *ISME J.* **2017**, 11, 2848–2863. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
25. Deng, L.; Wojciech, L.; Gascoigne, N.R.J.; Peng, G.; Tan, K.S.W. New insights into the interactions between *Blastocystis*, the gut microbiota, and host immunity. *PLoS Pathog.* **2021**, 17, e1009253. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
26. Audebert, C.; Even, G.; Cian, A.; Loywick, A.; Merlin, S.; Viscogliosi, E.; Chabé, M.; *Blastocystis* Investigation Group. Colonization with the enteric protozoa *Blastocystis* is associated with increased diversity of human gut bacterial microbiota. *Sci. Rep.* **2016**, 6, 25255. [Google Scholar] [CrossRef]
27. Tito, R.Y.; Chaffron, S.; Caenepeel, C.; Lima-Mendez, G.; Wang, J.; Vieira-Silva, S.; Falony, G.; Hildebrand, F.; Darzi, Y.; Rymenans, L.; et al. Population-level analysis of *Blastocystis* subtype prevalence and variation in the human gut microbiota. *Gut* **2019**, 68, 1180–1189. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
28. Even, G.; Lokmer, A.; Rodrigues, J.; Audebert, C.; Viscogliosi, E.; Ségurel, L.; Chabé, M. Changes in the human gut microbiota associated with colonization by *Blastocystis* sp. and *Entamoeba* spp. in non-industrialized populations. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2021**, 11, 533528. [Google Scholar] [CrossRef]
29. Yason, J.A.; Liang, Y.R.; Png, C.W.; Zhang, Y.; Tan, K.S.W. Interactions between a pathogenic *Blastocystis* subtype and gut microbiota: in vitro and in vivo studies. *Microbiome* **2019**, 7, 30. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
30. Alfellani, M.A.; Taner-Mulla, D.; Jacob, A.S.; Imeede, C.A.; Yoshikawa, H.; Stensvold, C.R.; Clark, C.G. Genetic diversity of *Blastocystis* in livestock and zoo animals. *Protist* **2013**, 164, 497–509. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
31. Zhao, G.H.; Hu, X.F.; Liu, T.L.; Hu, R.S.; Yu, Z.Q.; Yang, W.B.; Wu, Y.L.; Yu, S.K.; Song, J.K. Molecular characterization of *Blastocystis* sp. in captive wild animals in Qinling

- Mountains. *Parasitol. Res.* **2017**, 116, 2327–2333. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
32. Maloney, J.G.; Lombard, J.E.; Urie, N.J.; Shivley, C.B.; Santin, M. Zoonotic and genetically diverse subtypes of *Blastocystis* in US pre-weaned dairy heifer calves. *Parasitol. Res.* **2019**, 118, 575–582. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
33. Maloney, J.G.; Molokin, A.; Rodrigues da Cunha, M.J.; Cury, M.C.; Santin, M. *Blastocystis* subtype distribution in domestic and captive wild bird species from Brazil using next generation amplicon sequencing. *Parasite Epidemiol. Control* **2020**, 9, e00138. [Google Scholar] [CrossRef]
34. Maloney, J.G.; Rodrigues da Cunha, M.J.; Molokin, A.; Cury, M.C.; Santin, M. Next-generation sequencing reveals wide genetic diversity of *Blastocystis* subtypes in chickens including potentially zoonotic subtypes. *Parasitol. Res.* **2021**, 120, 2219–2231. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
35. Maloney, J.G.; Jang, Y.; Molokin, A.; George, N.S.; Santin, M. Wide genetic diversity of *Blastocystis* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from Maryland, USA. *Microorganisms* **2021**, 9, 1343. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
36. Higuera, A.; Herrera, G.; Jimenez, P.; Garcia-Corredor, D.; Pulido-Medellin, M.; Bulla-Castaneda, D.M.; Pinilla, J.C.; Moreno-Perez, D.A.; Maloney, J.G.; Santin, M.; et al. Identification of multiple *Blastocystis* subtypes in domestic animals from Colombia using amplicon-based next generation sequencing. *Front. Vet. Sci.* **2021**, 8, 732129. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
37. Stensvold, C.R.; Clark, C.G. Pre-empting Pandora’s box: *Blastocystis* subtypes revisited. *Trends Parasitol.* **2020**, 36, 229–232. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
38. Gantois, N.; Lamot, A.; Seesao, Y.; Creusy, C.; Li, L.L.; Monchy, S.; Benamrouz-Vanneste, S.; Karpouzopoulos, J.; Bourgain, J.L.; Rault, C.; et al. First report on the prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. in edible marine fish and marine mammals: A large-scale study conducted in Atlantic Northeast and on the coasts of Northern France. *Microorganisms* **2020**, 8, 460. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
39. Alfellani, M.A.; Stensvold, C.R.; Vidal-Lapiedra, A.; Onuoha, E.S.; Fagbenro-Beyioku, A.F.; Clark, C.G. Variable geographic distribution of *Blastocystis* subtypes and its potential implications. *Acta Trop.* **2013**, 126, 11–18. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]

40. Ramírez, J.D.; Sánchez, A.; Hernández, C.; Florez, C.; Bernal, M.C.; Giraldo, J.C.; Reyes, P.; Lopez, M.C.; Garcia, L.; Cooper, P.J.; et al. Geographic distribution of human Blastocystis subtypes in South America. *Infect. Genet. Evol.* **2016**, *41*, 32–35. [Google Scholar] [CrossRef]
41. Khaled, S.; Gantois, N.; Ayoubi, A.; Even, G.; Sawant, M.; El Houmayraa, J.; Nabot, M.; Benamrouz-Vanneste, S.; Chabé, M.; Certad, G.; et al. Blastocystis sp. prevalence and subtypes distribution amongst Syrian refugee communities living in North Lebanon. *Microorganisms* **2021**, *9*, 184. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
42. Hublin, J.S.Y.; Maloney, J.G.; Santin, M. Blastocystis in domesticated and wild mammals and birds. *Res. Vet. Sci.* **2021**, *135*, 260–282. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
43. Wang, W.; Owen, H.; Traub, R.J.; Cuttell, L.; Inpankaew, T.; Bielefeldt-Ohmann, H. Molecular epidemiology of Blastocystis in pigs and their in-contact humans in Southeast Queensland, Australia, and Cambodia. *Vet. Parasitol.* **2014**, *203*, 264–269. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
44. Greige, S.; El Safadi, D.; Bécu, N.; Gantois, N.; Pereira, B.; Chabé, M.; Benamrouz-Vanneste, S.; Certad, G.; El Hage, R.; Chemaly, M.; et al. Prevalence and subtype distribution of Blastocystis sp. isolates from poultry in Lebanon and evidence of zoonotic potential. *Parasites Vectors* **2018**, *11*, 389. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
45. Poulsen, C.S.; Efunshile, A.; Nelson, J.A.; Stensvold, C.R. Epidemiological aspects of Blastocystis colonization in children in Ilero, Nigeria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2016**, *95*, 175–179. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
46. Greigert, V.; Abou-Bacar, A.; Brunet, J.; Nourrisson, C.; Pfaff, A.W.; Benarbia, L.; Pereira, B.; Randrianarivelosoa, M.; Razafindrakoto, J.-L.; Rakotomalala, R.S.; et al. Human intestinal parasites in Mahajanga, Madagascar: The kingdom of the protozoa. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0204576. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]
47. Poirier, P.; Wawrzyniak, I.; Albert, A.; El Alaoui, H.; Delbac, F.; Livrelli, V. Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection and quantification of Blastocystis parasites in human stool samples: Prospective study of patients with hematological malignancies. *J. Clin. Microbiol.* **2011**, *49*, 975–983. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]

48. D'Alfonso, R.; Santoro, M.; Essi, D.; Monsia, A.; Kaboré, Y.; Glé, C.; Di Cave, D.; Sorge, R.P.; Di Cristianzano, V.; Berrilli, F. Blastocystis in Côte d'Ivoire: Molecular identification and epidemiological data. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2017**, *36*, 2243–2250. [Google Scholar] [CrossRef]
49. Vennila, G.D.; Suresh, K.G. Irregular shedding of *B. hominis*. *Parasitol. Res.* **1998**, *85*, 162–164. [Google Scholar] [CrossRef]
50. Forsell, J.; Granlund, M.; Samuelsson, L.; Koskiniemi, S.; Edebro, H.; Evengard, B. High occurrence of Blastocystis sp. subtypes 1-3 and Giardia intestinalis assemblage B among patients in Zanzibar, Tanzania. *Parasites Vectors* **2016**, *9*, 370. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
51. Lebba, V.; Santangelo, F.; Totino, V.; Pantanella, F.; Monsia, A.; Di Cristianzano, V.; Di Cave, D.; Schippa, S.; Berrilli, F.; D'Alfonso, R. Gut microbiota related to Giardia duodenalis, Entamoeba spp. and Blastocystis hominis infections in humans from Côte d'Ivoire. *J. Infect. Dev. Ctries.* **2016**, *10*, 1035–1041. [Google Scholar]
52. Di Cristianzano, V.; Farowski, F.; Berrilli, F.; Santoro, M.; Di Cave, D.; Glé, C.; Daeumer, M.; Thielen, A.; Wirtz, M.; Kaiser, R.; et al. Analysis of human gut microbiota composition associated to the presence of commensal and pathogen microorganisms in Côte d'Ivoire. *Microorganisms* **2021**, *9*, 1763. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
53. Cinek, O.; Polackova, K.; Odeh, R.; Alassaf, A.; Kramna, L.; Ibekwe, M.U.; Majaliwa, E.S.; Ahmadov, G.; Elmahi, B.M.E.; Mekki, H.; et al. Blastocystis in the faeces of children from six distant countries: Prevalence, quantity, subtypes and the relation to the gut bacteriome. *Parasites Vectors* **2021**, *14*, 399. [Google Scholar] [CrossRef]
54. Kodio, A.; Coulibaly, D.; Kassoum Koné, A.; Konaté, S.; Doumbo, S.; Guindo, A.; Bittar, F.; Gouriet, F.; Raoult, D.; Aly Thera, M.; et al. Blastocystis colonization is associated with increased diversity and altered gut bacterial communities in healthy Malian children. *Microorganisms* **2019**, *7*, 649. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
55. Dacal, E.; Saugar, J.M.; de Lucio, A.; Hernandez-de-Mingo, M.; Robinson, E.; Köster, P.C.; Aznar-Ruiz-de-Alegria, M.L.; Espasa, M.; Ninda, A.; Gandasegui, J.; et al. Prevalence and molecular characterization of Strongyloides stercoralis, Giardia duodenalis, Cryptosporidium spp., and Blastocystis spp. isolates in school children in Cuba, Western Angola. *Parasites Vectors* **2018**, *11*, 67. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed] [Green Version]

56. Muadica, A.S.; Köster, P.C.; Dashti, A.; Bailo, B.; Hernandez-de-Mingo, M.; Balasegaram, S.; Carmena, D. Molecular diversity of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp., and *Blastocystis* sp. in symptomatic and asymptomatic schoolchildren in Zambezia province (Mozambique). *Pathogens* **2021**, *10*, 255. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
57. Parfrey, L.W.; Walters, W.A.; Lauber, C.L.; Clemente, J.C.; Berg-Lyons, D.; Teiling, C.; Kodira, C.; Mohiuddin, M.; Brunelle, J.; Driscoll, M.; et al. Communities of microbial eukaryotes in the mammalian gut within the context of environmental eukaryotic diversity. *Front. Microbiol.* **2014**, *5*, 298. [Google Scholar] [CrossRef]
58. Bart, A.; Wentink-Bonnema, E.M.S.; Gilis, H.; Verhaar, N.; Wassenaar, C.J.A.; van Vugt, M.; Goorhuis, A.; Van Gool, T. Diagnosis and subtype analysis of *Blastocystis* sp. in 442 patients in a hospital setting in the Netherlands. *BMC Infect. Dis.* **2013**, *13*, 389. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
59. Ben Abda, I.; Maatoug, N.; Ben Romdhane, R.; Bouhelmi, N.; Zallegua, N.; Aoun, K.; Viscogliosi, E.; Bouratbine, A. Prevalence and subtype identification of *Blastocystis* sp. in healthy individuals in the Tunis area, Tunisia. *Am. J. Trp. Med. Hyg.* **2017**, *96*, 202–204. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
60. Abdulsalam, A.M.; Ithoi, I.; Al-Mekhlafi, H.M.; Al-Mekhlafi, A.M.; Ahmed, A.; Surin, J. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates in Sebha, Libya. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e84372. [Google Scholar] [CrossRef]
61. El Deeb, H.K.; Khodeer, S. *Blastocystis* spp.: Frequency and subtype distribution in iron deficiency anemic versus non-anemic subjects from Egypt. *J. Parasitol.* **2013**, *99*, 599–602. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
62. Fouad, S.A.; Basyoni, M.M.A.; Fahmy, R.A.; Kobaisi, M.H. The pathogenic role of different *Blastocystis hominis* genotypes isolated from patients with irritable bowel syndrome. *Arab J. Gastroenterol.* **2011**, *12*, 194–200. [Google Scholar] [CrossRef]
63. Hameed, D.M.A.; Hassanin, O.M.; Zuel-Fakkar, N.M. Association of *Blastocystis hominis* genetic subtypes with urticaria. *Parasitol. Res.* **2011**, *108*, 553–560. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
64. Souppart, L.; Moussa, H.; Cian, A.; Sancier, G.; Poirier, P.; El Alaoui, H.; Delbac, F.; Boorom, K.; Delhaes, L.; Dei-Cas, E.; et al. Subtype analysis of *Blastocystis* isolates from

- symptomatic patients in Egypt. *Parasitol. Res.* **2010**, 106, 505–511. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
65. Hussein, E.M.; Hussein, A.M.; Eida, M.M.; Atwa, M.M. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats. *Parasitol. Res.* **2008**, 102, 853–860. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
66. El-Badry, A.A.; Abd El Wahab, W.M.; Hamdy, D.A.; Aboud, A. *Blastocystis* subtypes isolated from irritable bowel syndrome patients and co-infection with *Helicobacter pylori*. *Parasitol. Res.* **2018**, 117, 127–137. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
67. Mokhtar, A.B.; Youssef, A.I. Subtype analysis of *Blastocystis* spp. isolated from domestic mammals and poultry and its relation to transmission to their in-contact humans in Ismailia governorate, Egypt. *Parasitol. United J.* **2018**, 11, 90–98. [Google Scholar] [CrossRef]
68. El Saftawy, E.A.; Amin, N.M.; Hamed, D.H.; Elkazazz, A. The hidden impact of different *Blastocystis* genotypes on C-3 and IgE serum levels: A matter of debate in asthmatic Egyptian children. *J. Parasit. Dis.* **2019**, 43, 443–451. [Google Scholar] [CrossRef]
69. Mokhtar, A.B.; Ahmed, S.A.; Eltamany, E.E.; Karanis, P. Anti-*Blastocystis* activity in vitro of Egyptian herbal extracts (Family: Asteraceae) with emphasis on *Artemisia judaica*. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2019**, 16, 1555. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
70. Mossallam, S.F.; El-Mansoury, S.A.T.; Tolba, M.M.; Kohla, A.A. In vitro susceptibility of human *Blastocystis* subtypes to simeprevir. *Saudi J. Biol. Sci.* **2021**, 28, 2491–2501. [Google Scholar] [CrossRef]
71. Abdo, S.M.; El-Adawy, H.; Farag, H.F.; El-Taweel, H.A.; Elhadad, H.; El-Badry, A.A.-M. Detection and molecular identification of *Blastocystis* isolates from humans and cattle in northern Egypt. *J. Parasit. Dis.* **2021**, 45, 738–745. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
72. Boutellis, A.; Aissi, M.; Harhoura, K.; Drali, R.; Kernif, T. First molecular characterization of *Blastocystis* subtypes from animals and animal-keepers stool in Algeria. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **2021**, 78, 101695. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

73. Petrasova, J.; Uzlikova, M.; Kostka, M.; Petrzelkova, K.J.; Huffman, M.A.; Modry, D. Diversity and host specificity of *Blastocystis* in syntopic primates on Rubondo Island, Tanzania. *Int. J. Parasitol.* **2011**, *41*, 1113–1120. [Google Scholar] [CrossRef]
74. Belkessa, S.; Ait-Salem, E.; Laatamna, A.; Houali, K.; Sönksen, U.W.; Hakem, A.; Bouchene, Z.; Ghalmi, F.; Stensvold, C.R. Prevalence and clinical manifestations of *Giardia intestinalis* and other intestinal parasites in children and adults in Algeria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2021**, *104*, 910–916. [Google Scholar] [CrossRef]
75. Sebaa, S.; Behnke, J.M.; Baroudi, D.; Hakem, A.; Abu-Madi, M. Prevalence and risk factors of intestinal protozoan infection among symptomatic and asymptomatic populations in rural and urban areas of southern Algeria. *BMC Infect. Dis.* **2021**, *21*, 888. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
76. El Fatni, C.; Olmo, F.; El Fatni, H.; Romero, D.; Rosales, M.J. First genotyping of *Giardia duodenalis* and prevalence of enteroparasites in children from Tetouan (Morocco). *Parasite* **2014**, *21*, 48. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
77. Graczyk, T.K.; Shiff, C.K.; Tamang, L.; Munsaka, F.; Beitin, A.M.; Moss, W.J. The association of *Blastocystis hominis* and *Endolimax nana* with diarrheal stools in Zambian school-age children. *Parasitol. Res.* **2005**, *98*, 38–43. [Google Scholar] [CrossRef]
78. Zhu, W.; Tao, W.; Gong, B.; Yang, H.; Li, Y.; Song, M.; Lu, Y.; Li, W. First report of *Blastocystis* infections in cattle in China. *Vet. Parasitol.* **2017**, *246*, 38–42. [Google Scholar] [CrossRef]
79. Greige, S.; El Safadi, D.; Khaled, S.; Gantois, N.; Baydoun, M.; Chemaly, M.; Benamrouz-Vanneste, S.; Chabé, M.; Osman, M.; Certad, G.; et al. First report on the prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. in dairy cattle in Lebanon and assessment of zoonotic transmission. *Acta Trop.* **2019**, *194*, 23–29. [Google Scholar] [CrossRef]
80. Rauf-Adetotum, A.A.; Termizi, F.H.M.; Shaari, N.; Lee, I.L. The coexistence of *Blastocystis* spp. in humans, animals and environmental sources from 2010–2021 in Asia. *Biology* **2021**, *10*, 990. [Google Scholar] [CrossRef]

Article 4 : Timothé Guilavogui, Nausicaa Gantois, Jérémy Desramaut, Fode Ibrahima Cissé, Salif Cherif Touré, Bakary Luther Kourouma, Cristian Preda, Magali Chabé, Eric Viscogliosi et Gabriela Certad. *Cryptosporidium* spp. prevalence in general population in Guinea: first large-scale screening study. Parasite 2024 sous presse.

Résumé

Cryptosporidium est une cause majeure de mortalité par diarrhée chez les enfants en Afrique et en Asie. Malgré l'impact de ce parasite en santé publique, son épidémiologie moléculaire et sa circulation en Guinée restent mal connues. Par conséquent, cette étude visait à déterminer la prévalence et la distribution des génotypes de *Cryptosporidium* dans la population générale guinéenne. Pour ce faire, des échantillons fécaux ont été collectés auprès de 834 individus présentant ou non des troubles digestifs dans deux hôpitaux de Conakry. La présence du parasite dans les selles a été détectée par PCR nichée ciblant le gène de l'ARNr 18S, suivie du séquençage des produits de PCR pour le génotypage des isolats. La prévalence détectée par PCR était de 0,12% pour l'ensemble de la cohorte et de 0,2% en ne prenant en compte que les adultes. La faible fréquence de *Cryptosporidium* observée dans la présente étude est donc cohérente avec les valeurs de prévalence de ce parasite déjà rapportées dans certains pays africains. *C. hominis* a été l'espèce identifiée dans le seul échantillon positif. Cette enquête est la première à rapporter la prévalence de *Cryptosporidium* dans la population générale de Guinée. Compte tenu du potentiel de ce parasite à provoquer des diarrhées sévères, des études supplémentaires sont nécessaires pour clarifier l'épidémiologie de *Cryptosporidium* dans ce pays.

Ma contribution dans cette étude

- Participation à la mise en place de cette étude
- Enregistrement et analyse des données
- Participation à la rédaction de l'article

***Cryptosporidium* spp. prevalence in general population in Guinea: first large-scale screening study**

Timothé Guilavogui ^{1,2}, Nausicaa Gantois¹, Jérémy Desramaut ¹, Fode Ibrahima Cissé ³, Salif Cherif Touré ³, Bakary Luther Kourouma ⁴, Cristian Preda ⁵, Magali Chabé ¹, Eric Viscogliosi ¹, Gabriela Certad ^{1,5}

¹ CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-UMR 9017-CIIL-Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Université de Lille, F-59000 Lille, France.

² Unité d'Appui à la Gestion et la Coordination des Programmes, Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique, Conakry BP 585, Guinea.

³ Hôpital National Ignace Deen CHU de Conakry, Laboratoire de Parasitologie, Conakry BP 1263, Guinea.

⁴ Centre de Santé Anastasis, Conakry BP 1032, Guinea.

⁵ Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation, Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille, Lille Catholic University, F-59000 Lille, France.

Corresponding author: gabriela.certad@pasteur-lille.fr

Abstract

Cryptosporidium spp. is a leading cause of diarrheal mortality in children in Africa and Asia. Despite the public health significance of this parasite, its molecular epidemiology and circulation in Guinea remain poorly understood. Therefore, this study aimed to determine the prevalence and genotype distribution of *Cryptosporidium* in the Guinean general population. To achieve this, fecal samples were collected from 834 individuals, both with and without digestive disorders, at two hospitals in Conakry. The presence of the parasite in the stool samples was detected using nested PCR targeting the SSU rDNA gene, followed by sequencing of the PCR products for genotyping of the isolates. The PCR-based prevalence was 0.12% for the whole cohort, and 0.2% among adults. The low frequency of *Cryptosporidium* observed in the current study is thus consistent with the prevalence of this parasite already reported in some African countries. The *Cryptosporidium* species identified in the positive sample was *C. hominis*. This study is the first to report the prevalence of *Cryptosporidium* in the general population of Guinea. Given the potential of this parasite to cause life-threatening diarrhea, further studies are needed to clarify the epidemiology of *Cryptosporidium* in this country.

Keywords : *Cryptosporidium* spp, molecular epidemiology, transmission, zoonosis, Guinea, Africa

Introduction

Parasites of the genus *Cryptosporidium* are intracellular protozoa belonging to the Apicomplexa phylum. This genus comprises species that infect the gastrointestinal tract of many vertebrates including humans [8]. *Cryptosporidium* species cause a cosmopolitan emerging opportunistic infection with a considerable impact on immunocompromised hosts such as HIV/AIDS patients, in whom cryptosporidiosis can become chronic or even lethal [32]. Additionally, cryptosporidiosis is considered the second leading cause of infant mortality due to diarrhea [23,24]. Oocysts are the propagative form of *Cryptosporidium*, becoming infectious immediately upon excretion. These oocysts contaminate the environment posing a significant threat as they facilitate transmission between humans and animals [3]. These forms are resistant to typical disinfectants and water chlorination, and can remain viable and infectious for several months [37].

The infection is transmitted via the fecal - oral route by ingestion of oocysts present in fecally contaminated water or food, or by contact with an infected host. However, infection can also occur in immunocompetent individuals, either sporadically or in epidemic outbreaks, typically resulting in self resolving, uncomplicated diarrhea [8]. The species most commonly infecting humans are *C. parvum* and *C. hominis*, although infections by other species such as *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. canis*, *C. ubiquitum* and *C. cuniculus* have been reported, mainly in immunocompromised patients [38]. Currently, no effective specific treatment is available for cryptosporidiosis [3].

Cryptosporidiosis has a significant impact on public health, particularly in low-income countries. Most African countries are considered as low-income or lower-middle-income economies according to World Bank definitions [37]. Of the 31 countries worldwide classified in the lowest income group, 24 (77%) are in Africa [37]. One of the first studies to examine the impact of *Cryptosporidium* in an African country was carried out in Guinea-Bissau. In this study *Cryptosporidium* infection was identified in 239 (7.4%) episodes of diarrhea out of 3,215 reported in 205 children, in addition, the parasite was associated with high mortality in children under 2 years of age [30]. Twenty years later, the Global Enteric Multicenter Study (GEMS), which included a cohort of over 20,000 children, provided the first worldwide

estimates of the impact of cryptosporidiosis across different age groups in Africa and East Asia [24]. In particular, cryptosporidiosis was identified as the second leading cause of diarrheal mortality in children aged 12 to 24 months in Africa and India. In these regions, transmission of the disease, primarily caused by *C. parvum* and *C. hominis*, is mainly human-to-human. The risk factors associated with infection include high population density, poor hygiene conditions, lack of sewage treatment and young age [24,50].

Cryptosporidium infection in children under 5 years of age has been associated with 44.8 million diarrheal episodes and 48,300 deaths worldwide [23]. *Cryptosporidium*-associated diarrhea mortality is particularly high in sub-Saharan Africa among children under 5 years of age. For instance, 23,300 (48%) *Cryptosporidium* related deaths in this group of age were reported in Nigeria (n=18,900) and the Democratic Republic of the Congo (n=4,900) [18]. Furthermore, it has been shown that damage to the intestinal epithelial cells caused by the infection significantly harms children's gut health, impairing nutrient absorption and leading to stunted growth, reduced neurocognitive development, and other long-term consequences [35]. Considering the downstream effects of stunting associated with cryptosporidiosis, it is estimated that the prevalence of this parasite could be 2.5 times higher than previously thought [37]. The prevalence of cryptosporidiosis is expected to increase by up to 70% in some regions of the world by 2,050 due to urbanization and climate change, making the prevention and treatment of this parasitic infection crucial, especially for immunocompromised individuals and children [3]. Despite the public health significance of *Cryptosporidium*, its molecular epidemiology and circulation in Guinea are not well understood. Therefore, the aim of the current study was to characterize the prevalence of *Cryptosporidium* in the general population of Guinea.

Material and methods

2.1. Ethics Approval

The present study was approved by the National Ethics Committee on Health Research (CNERS) of Guinea (reference number 170/CNERS/20; approval date: 24 December 2020). It was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki III and the International Ethical Guidelines for Biological Research Involving Human Subjects. Participants were thoroughly informed about the research project prior to enrollment, and written informed consent was obtained from each adult participant or from the parents or guardians of minor participants.

2.2. Questionnaire Survey

A standardized questionnaire was designed to collect information about each participant including gender, age, residence place, source of drinking water (drilling, tap or mineral water), contact with domestic animals and presence of digestive symptoms (i.e., diarrhea, abdominal pain, vomiting, bloating and constipation). A participant was considered symptomatic if at least one of the five specified digestive disorders was present. All subjects' data were fully anonymized.

2.3. Sampling

This survey was conducted in West Africa, Republic of Guinea and precisely in Conakry (geographical coordinates: latitude 9°32'16" N, longitude 13°40'38" W, the capital and largest city of Guinea, West Africa, with an estimated population of approximately 2,300,000. Participants were recruited among patients seeking for care for different pathologies, with or without gastrointestinal symptoms in 2 hospitals of the city: the National Hospital Ignace Deen (NHID) (n=534 patients) and the Confessional Health Center Anastasis (CHCA) (n=300 patients) located in the South and North of Conakry, respectively. Sampling was completed in two periods: the first one between January and March of 2021. This period of the year corresponded to the dry season under tropical monsoon climate. At this season, almost no precipitation falls in Conakry and the daily mean temperature reaches 25 to 27 °C. The second collection was performed in July 2022, corresponding to the wet season, the daily mean temperature reaches 30 to 32 °C. For each patient, one stool sample was collected at each hospital during routine standard care. Around 2 g of fresh stools was collected in 2 mL of 2.5% potassium dichromate (w/v in water) (Sigma Life Sciences, Saint Louis, MO, USA) in a sterile tube. All samples were stored at 4 °C and then transported to the Pasteur Institute of Lille (France) for further analysis.

2.4. Molecular Detection of *Cryptosporidium*

DNA was extracted from approximately 200 mg of fecal samples using the NucleoSpin 96 Soil Kit or NucleoSpin Soil Mini Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Germany) according to the manufacturer's instructions. This kit is useful for *Cryptosporidium* detection considering that contains a beat bashing step, which helps to break the oocyst walls improving molecular detection rates. DNA was kept at -20 °C until use. A nested PCR targeting the 18S

rRNA gene was performed as previously [49] with slight modifications (the analytical sensitivity of this technique in our laboratory for the detection of *Cryptosporidium* DNA from 5µL of serial 10-fold 18S rRNA plasmids diluted in a final volume of 50µL is of 10 copies, which is equivalent to at least 1 oocyst [9]). The external primers used were 5' - TTCTAGAGCTAATACATGCG-3' (forward) and 5' -CCCATTCCTTCGAAACAGGA-3' (reverse). The internal primers used were 5' - GGAAGGGTTGTATTTATTAGATAAAG-3' (forward) and 5' - AAGGAGTAAGGAACAACC TCCA-3' (reverse). The first PCR mixture was prepared in a final volume of 50 µL as follows: 10 µL of DNA, 1x HotStarTaq Plus buffer, 2 mM MgCl₂, 0.4 µM for each primer, 0.4 µM dNTP each and 1.5 U HotStarTaq Plus DNA polymerase (Qiagen Inc., Hilden, Germany). The conditions for the PCR were as follows: 94 °C for 5 min, followed by 40 cycles of 94 °C for 45 s, 65 °C for 45 s, and 72 °C for 1 min. The post-extension was completed at 72 °C for 5 min. The second PCR mixture was prepared in a final volume of 50 µL as follows: 2 µL of the primary PCR product, 1x HotStarTaq Plus buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.4 µM for each primer, 200 µM dNTP each and 1.5 U HotStarTaq Plus DNA polymerase. The nested PCR conditions were the same for both rounds. Nested PCRs were performed in a Gene touch Hangzhou BIOER Thermal Cycler (Hangzhou Bioer Technology Co., Ltd, China).

2.5. DNA Sequencing and Analysis

Positive PCR products were purified and the amplicons were sequenced on both strands (Sanger technology) using the forward and reverse primers of the nested PCR by the company Genoscreen (Pasteur Institute of Lille, Lille, France). Comparisons with similar sequences of *Cryptosporidium* available on the NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>, accessed on August 2023) and CryptoDB servers (<https://cryptodb.org/cryptodb/app/workspace/blast/new>, accessed on July 2024) were performed using the basic local alignment search tool (BLAST). To consider the sequences analyzed in this study as the same *Cryptosporidium* species when compared to references, the identity value should be in the range of 98–100% sequence similarity. The nucleotide sequence identified in this study was deposited in GenBank under the accession number PQ101122.

2.6. Descriptive statistics

Frequencies and their 95% associated confidence intervals (95IC) for the risk factors were calculated.

Results and discussion

Demographic characteristics of the study population are detailed in Table 1. Among the 834 patients followed up at the two hospitals included in this study, 48.56% were female and 51.43% were male. Participants' ages ranged from 1 year to 83 years, with a median of 26 years (IQR 11-36). The age distribution was as follows: 7.43% were children aged 0 to 5 years, 35.25% were aged 6 to 18 years, and 57.31% were 19 years and older. The majority of participants (75.77%, 632/834) resided in Conakry while the remaining participants were from towns in the suburbs of the city. In this cohort, 680 individuals (81.53%) were classified as symptomatic, having experienced at least one of the 5 selected digestive symptoms as follows: abdominal pain was the most common symptom (603/834, 81.53%), followed by constipation (185/834, 22.18%), diarrhea (58/433, 13.4%), and vomiting (18/433, 4.2%). None of the patients reported bloating. The remaining 67 participants (13.4%) were asymptomatic at the time of the study (Table 1). Ten patients out of 834 reported to be immunosuppressed, and from this group, four persons declared to be HIV+. We did not have access to data to confirm the HIV infection status of volunteers included in the study. *Cryptosporidium* infection was identified in only one sample collected in the dry season, representing a prevalence of 0.12% for the entire cohort, and 0.2% when considering only adults. Even if seasonality is considered a driver for cryptosporidiosis in tropical countries with an increasing prevalence of *Cryptosporidium* during rainfall season [45], no *Cryptosporidium* cases were detected during this period in the current study.

A recent meta-analysis about the prevalence of intestinal parasitosis in Guinea reported two studies on *Cryptosporidium* prevalence among HIV patients [18]. To our knowledge, this is the first study to provide a recent estimate of the presence of *Cryptosporidium* spp in the general population of this country. The only positive case was a 27-year-old non-immunocompromised patient who did not experience diarrheal symptoms but did report occasional abdominal pain. This individual lived in a household composed of 5 adults and 10 children.

Interestingly, living in a large household of more than seven members has been described as a risk factor for *Cryptosporidium* infection. This is likely due to the fact that in larger households the risk of person-to-person transmission is potentially increased [2]. Other behaviors increasing risk for *Cryptosporidium* infection such as animal contact, consumption of unwashed vegetables, poor drinking water quality, lack of toilet facilities, travels out of Guinea, or river bathing were not identified. Table 2 summarizes surveys for *Cryptosporidium* conducted among the general population in Sub-Saharan Africa, revealing prevalences ranging from less than 1% to 32.4%. The low frequency of *Cryptosporidium* observed in the current study is thus consistent with the $\leq 1\%$ of prevalence of this parasite already reported after using molecular diagnosis methods in some African countries among general population such as Madagascar, Ethiopia, Kenya, Tanzania and Cote d'Ivoire [6,13,15,16,22] (Table 2).

In other studies among healthy individuals without symptoms in Qatar, Malaysia and Taiwan, prevalences around 5% were observed [26,27,39]. A previous molecular survey carried out in the Akkar district of North Lebanon, revealed a *Cryptosporidium* prevalence of 4% among symptomatic, immunocompetent adult patients [33]. Other studies indicated that *Cryptosporidium* prevalence can exceed 70% or more in symptomatic patients with diarrhea [45]. Additionally, results from various African studies have shown that *Cryptosporidium* prevalence in immunocompromised patients, particularly those with HIV and low CD4+ cell counts, can account for nearly 50% [45].

The *Cryptosporidium* species identified in the positive sample was *C. hominis*, an anthroponotic species. The corresponding sequence matched 100 % with a *C. hominis* sequence previously reported in Uganda and formerly identified as *C. parvum* genotype 1 (AF481962). This sequence was identified among hospitalized children (0-5 years old) with diarrhea and a significant association between *Cryptosporidium* infection and malnutrition including stunting, being underweight, and wasting was observed [47]. Several authors agree that anthroponotic and zoonotic transmissions are responsible for *Cryptosporidium* infection in Africa, with a predominance of *C. hominis* and of an anthroponotic subtype of *C. parvum* [23,37]. Interestingly some hypotheses have been proposed to explain the low prevalence of *Cryptosporidium* in some areas of Africa: 1) the lower frequency of *Cryptosporidium* has been found in African urban settings compared to rural ones [31]. Such is the case of the current study in which 75.77% of the population was from Conakry. This difference is likely due to urban populations having better access to improved water sources and sanitation healthcare

facilities. Moreover, in urban settings there is less potential for zoonotic transmission of *Cryptosporidium* from livestock or wildlife. Additionally, rural populations tend to be poorer than their urban counterparts, which affects their level of hygienic practices; 2) the lack of *C. parvum* observed in native cattle breeds in some African regions might reduce zoonotic cryptosporidiosis transmitted to humans [28]; 3) the early-life exposure to *Cryptosporidium* could limit future infections ; 4) the genetic variations in the population may contribute to make individuals more or less susceptible to specific infections [37]. For instance, a genetic variant within protein kinase C alpha (PRKCA) was identified and associated with an increased risk of cryptosporidiosis in the first year of life. Interestingly, the highest frequencies of this genetic variant were observed in East Asian populations where the prevalence of cryptosporidiosis are high. In contrast, this allele was less common in West Africa [48].

Limitations of our study include the examination of only one stool per patient. Indeed, intermittent oocyst excretion is recognized and for that reason, 3 stool samples are considered as the optimal number necessary to detect the microorganism [11]. In addition, in the current work, we focused on the study of the general population, including a majority of persons older than 5 years (92.56%). Therefore, this cohort may not fully represent the disease burden suggesting that a high number of asymptomatic or mild diarrheal cases, are probably missed. In addition, a previous meta-analysis about the prevalence of intestinal parasitosis in Guinea showed a trend towards a higher prevalence in studies conducted in the community compared to those performed at health care centers [18] as it is the case in the current research.

In conclusion, this is the first study reporting the prevalence of *Cryptosporidium* in the general population in Guinea. Although the overall prevalence is low, the presence of the parasite remains a public health concern due to its potential to cause severe diarrhea in certain patients. Interestingly, in this country the prevalence of HIV, one of the risk factors of *Cryptosporidium* infection, is estimated at 1.5% among people aged 15-49. This prevalence is higher among homosexuals (9.8%) and drug users (3.6%) [12]. Further longitudinal studies are essential to elucidate the molecular epidemiology and pathogenesis of *Cryptosporidium* infection, as well as to understand the roles of host and environmental factors in susceptibility, immune response, and clinical outcomes of cryptosporidiosis [10]. These studies will help clarify the dynamics of infection, improve diagnostic and treatment strategies, and inform public health interventions to better manage and prevent the impact of this parasitic disease.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors would like to extend their gratitude to the staff at National Hospital Ignace Deen and Confessional Health Center Anastasis for their roles in sample collection, management, and listing preparation. Special thanks also go to Héloïse Cagnard and Constance Denoyelle for their technical support, and to Akoi Koivogui, Noël Tambana Guilavogui, Aboubacar Sidiki Camara, and Fode Camara for their invaluable help in establishing the ethics protocol.

Funding

This study was supported by the Centre National de la Recherche Scientifique, the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, the Institut Pasteur of Lille, the University of Lille, the University Catholic of Lille and the CHRU of Lille.

Table 1. Demographic characteristics of the study population

Demographic and clinical data	Frequency (%)	CI (95%)
Gender		
Male	429/834 (51.43)	[48.04; 54.82]
Female	405/834 (48.56)	[45.17; 51.95]
Age (years)		
≤5	62/834 (7.43)	[5.57; 9.10]
6-18	294/834 (35.25)	[32.00; 38.50]
≥18	478/834 (57.31)	[53.95; 60.67]
Living in Conakry		
Living in Conakry	632/834 (75.77)	[72.86; 78.67]
Living in other areas	202/834 (24.22)	[21.31; 27.12]
Drinking water source		
Exclusively mineral water	36/834 (4.31)	[2.93; 5.69]
Different sources (tap, spring, mineral)	798/834 (95.68)	[94.30; 97.05]
Contact with animals		
Yes	122/834 (14.63)	[12.23; 17.02]
No	712/834 (85.37)	[82.97; 87.76]
Unwashed fruits and vegetables consumption		
Yes	17/834 (2.04)	[1.09; 2.30]
No	817/834 (97.96)	[97.00; 98.91]
Large household size (more than seven members)		
Yes	331/834 (39.6)	[36.28; 42.92]
No	503/834 (60.31)	[56.99; 63.63]
Antecedent of parasite infection		
Yes	156/832 (18.75)	[16.10; 21.39]
No	676/832 (81.25)	[78.60; 83.90]
Travels out of Guinea		

Yes	20/834 (2.40)	[1.36; 3.44]
No	814/834 (97.60)	[96.56; 98.64]
River bathing		
Yes	15/834 (1.80)	[0.90; 2.70]
No	819/834 (98.20)	[97.30; 99.10]
Presence of symptoms		
Abdominal pain	603/834 (72.30)	[69.26; 75.33]
Diarrhea	83/834 (9.95)	[7.91; 11.98]
Vomiting	29/834 (3.48)	[2.24; 4.72]
Constipation	185/834 (22.18)	[19.36; 24.99]
Bloating	0/834 (0)	-
Immunodepression		
Yes	10/834 (1.19)	[0.46;1.94]
No	824/834 (98.80)	[98.06;99.54]
HIV+		
Yes	4/834 (0.48)	[0.01; 0.94]
No	830/834 (99.52)	[99.05; 99.99]

Table 2. Cryptosporidium frequency in general population in Sub-Saharan countries according to different studies

Country	Year*	Age group (years)	Population	Presence of symptoms	<i>Cryptosporidium</i> Frequency No. positive/ No. samples (%)	Diagnostic methods	Molecular markers	<i>Cryptosporidium</i> Species	References
Nigeria	2007	Adults	People in the community	NR	204 (rural: 29.7, urban :19.4)	Formol-ether and microscopy (modified Ziehl-Neelsen staining)	NA	ND	[21]
Zambia	2007	Adults	Farmers	Not digestive disorders	18/289 (6)	ELISA and nested PCR	SSU-rRNA and HSP70	<i>C. parvum</i> / <i>C. hominis</i>	[43]
Ethiopia	2010	1-45	People seeking medical attention including HIV patients	Digestive disorders	79/1034 (7.6)	Microscopy (Ziehl-Neelsen staining), nested PCR	COWP, SSU-rRNA and GP60	<i>C. hominis</i> , <i>C. parvum</i>	[1]
Zimbabwe	2010	All ages	People in the community	NR	19/300 (6.3)	Microscopy (Ziehl-Neelsen staining)	NA	ND	[29]
Cameroon	2011	Adults	People in the community	NR	1/35 (2.9) (considering only controls)	Immunoassay	NA	ND	[36]
Uganda	2012	<75	People in the community (human volunteers)	Not digestive disorders	35/108 (32.4)	Nested PCR	COWP	<i>C. parvum</i> / <i>C. hominis</i>	[40]
Madagascar	2014	NR	People in the community	NR	1/120 (0.8)	PCR-RFLP	SSU-rRNA	<i>C. suis</i>	[6]
Mali	2015	18-30	European soldiers	Digestive disorders	3/51 (5.7)	Multiplex PCR	NR	<i>C. parvum</i>	[17]
Sudan	2015	1-80	Inhabitants of 2 rural areas considering only >20 years old	NR	34/247 (13.3)	Microscopy (Ziehl-Neelsen staining)	NA	ND	[42]
Tanzania	2015	NR	People in the community	Digestive disorders	8/185 (4.3)	PCR-RFLP	SSU rRNA	<i>C. hominis</i>	[34]
Ethiopia	2015	< 80	People seeking medical attention	Digestive disorders	1/92 (1.1)	Microscopy (Ziehl-Neelsen staining), nested PCR assay	GP60	<i>C. hominis</i> IbA9G3	[15]
Burkina Faso	2015	All ages	People seeking medical attention	Digestive disorders	77/291 (26.5)	Formol-ether concentration and modified Ziehl-Neelsen staining	NA	ND	[41]

Cote d'Ivoire	2015	>12 months	People in the community	Digestive disorders	5/121 (4.13)	Antigen detection RDT, multiplex reverse transcriptase (RT-) PCR	NR	ND	[4]
Kenya	2016	2-81	People in the community	NR	?/796 (<1)	Real-time PCR	NR	NR	[13]
Tanzania	2016	All ages	People in the community	NR	2/174 (1.1)	Real-time PCR	SSU-rRNA	ND	[16]
Ghana	2017	Adults	Livestock farmers	NR	8/95 (8.4)	Real-time PCR	SSU-rRNA	<i>C. parvum</i>	[46]
Mozambique	2018	>17	People seeking medical attention excluding immunosuppressed people	Digestive disorders	9/108 (8.3)	PCR-RFLP	SSU-rRNA	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> , <i>C. felis</i> ,	[7]
Madagascar	2020	All ages	People in the community	NR	4/49 (8.16)	Immunoassay	NA	NA	[44]
Ethiopia	2021	6-66	People seeking medical attention excluding immunosuppressed people	Digestive disorders	23/95 (24.2)	Microscopy, nested PCR and real-time PCR	SSU-rRNA and GP60	<i>C. parvum</i> and <i>C. hominis</i>	[20]
Madagascar	2021	18-36	Household contacts	NR	4/52 (7.69)	Nested PCR	SSU-rRNA	<i>C. hominis</i>	[14]
Gabon	2021	6-25	Household contacts	NR	16/79 (20.25)	Nested PCR	SSU-rRNA	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> , <i>C. felis</i> ,	[25]
Tanzania	2021	7-30	Household contacts	NR	16/114 (14.03)	Nested PCR	SSU-rRNA	<i>C. parvum</i> and <i>C. hominis</i>	[25]
Ghana	2021		Household contacts	NR	11/105 (10.48)	Nested PCR	SSU-rRNA	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> , <i>C. felis</i>	[25]
Ethiopia	2022	>6	Farmers	NR	10/113 (8.8)	Sheather sugar solution and Microscopy (modified Ziehl-Neelsen staining)	NA	NA	[5]
Cote d'Ivoire	2024	1-75	People in the community	Not digestive disorders	3/259 (1.2) (considering only controls)	Multiplex real-time PCR	NR	ND	[22]
Mali	2024	1-56	People in the community	Not digestive disorder	26/547 (4.8) (considering only controls)	Multiplex real-time PCR	NR	ND	[22]
Ethiopia	2024	Adults	People seeking medical attention	NR	14/122 (11.5)	Microscopy (Ziehl-Neelsen staining)	NA	NA	[19]

*Year of publication, NR: Not reported; NA: Not applicable; ND: Not determined; table modified from [45]

References

1. Adamu H, Petros B, Hailu A, Petry F. 2010. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from humans in Ethiopia. *Acta Tropica*, 115(1-2),77-83.
2. Al-Mekhlafi HM, Mahdy MA, 'Azlin MY, Fatmah MS, Norhayati M. 2011. Childhood *Cryptosporidium* infection among aboriginal communities in Peninsular Malaysia. *Ann Trop Med Parasitol*. 105(2):135-43.
3. Ali M, Xu C, Nawaz S, Ahmed AE, Hina Q, Li K. 2024. Anti-Cryptosporidial drug-discovery challenges and existing therapeutic avenues: A “One-Health” Concern. *Life*, 4(1):80.
4. Becker SL, Chatigre JK, Gohou JP, Coulibaly JT, Leuppi R, Polman K, Chappuis F, Mertens P, Herrmann M, N’Goran EK, Utzinger J, Müller L von. 2015. Combined stool-based multiplex PCR and microscopy for enhanced pathogen detection in patients with persistent diarrhoea and asymptomatic controls from Côte d’Ivoire. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(6):591.e1-10.
5. Berhanu K, Ayana D, Megersa B, Ashenafi H, Waktole H. 2022. *Cryptosporidium* in human-animal-environment interphase at Adama and Asella areas of Oromia regional state, Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, 18(1):402.
6. Bodager JR, Parsons MB, Wright PC, Rasambainarivo F, Roellig D, Xiao L, Gillespie TR. 2015. Complex epidemiology and zoonotic potential for *Cryptosporidium suis* in rural Madagascar. *Veterinary Parasitology*, 207(1-2),140-37.
7. Casmo V, Lebbad M, Maungate S, Lindh J. 2018. Occurrence of *Cryptosporidium* spp. and *Cystoisospora belli* among adult patients with diarrhoea in Maputo, Mozambique. *Heliyon*, 4(9):e00769.
8. Certad G, Viscogliosi E, Chabé M, Cacciò SM. 2017. Pathogenic mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends in Parasitology*, 33, 561–576.
9. Certad G, Gantois N, Merlin S, Martel S, Even G, Viscogliosi E, Audebert C, Chabé M. 2024. Frequency and Molecular Identification of *Cryptosporidium* in adult Prim’Holstein dairy cattle farms in the North of France. *Microorganisms*, 12(2):33510.
10. Checkley W, White AC, Jaganath D, Arrowood MJ, Chalmers RM, Chen X-M, Fayer R, Griffiths JK, Guerrant RL, Hedstrom L, Huston CD, Kotloff KL, Kang G, Mead JR, Miller M, Petri WA, Priest JW, Roos DS, Striepen B, Thompson RCA, Ward HD, Voorhis WA Van, Xiao L, Zhu G, Houpt ER. 2015. A review of the global burden, novel diagnostics,

- therapeutics, and vaccine targets for *Cryptosporidium*. The Lancet Infectious Diseases, 15, 85–94.
11. Clavel A, Arnal AC, Sánchez EC, Varea M, Castillo FJ, Ramírez de Ocariz I, Quílez J, Cuesta J. 1995. Evaluation of the optimal number of faecal specimens in the diagnosis of cryptosporidiosis in AIDS and immunocompetent patients. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 14(1), 46-49.
 12. Comité Nationale de Lutte contre le Sida-Guinée (CNLS). Enquête de surveillance comportementale et biologique (ESCOMB) sur le VIH et les IST auprès des populations clés, Guinée 2022. (accessed on 1 October 2024). Available online: https://cnls-guineeconakry.org/wp-content/uploads/2024/08/GIN_Rap_ESCOMB_OE_VF_Plan-Int_PNLSH_PZ.pdf.
 13. Easton A V., Oliveira RG, O’Connell EM, Kepha S, Mwandawiro CS, Njenga SM, Kihara JH, Mwatele C, Odiero MR, Brooker SJ, Webster JP, Anderson RM, Nutman TB. 2016. Multi-parallel qPCR provides increased sensitivity and diagnostic breadth for gastrointestinal parasites of humans: Field-based inferences on the impact of mass deworming. Parasites and Vectors, 9, 38.
 14. Eibach D, Krumkamp R, Al-Emran HM, Sarpong N, Hagen RM, Adu-Sarkodie Y, Tannich E, May J. 2015. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. among children in rural Ghana. PLoS Neglected Tropical Diseases, 9, e0003551.
 15. Flecha MJ, Benavides CM, Tissiano G, Tesfamariam A, Cuadros J, Lucio A de, Bailo B, Cano L, Fuentes I, Carmena D. 2015. Detection and molecular characterisation of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp. and *Entamoeba* spp. among patients with gastrointestinal symptoms in Gambo Hospital, Oromia Region, southern Ethiopia. Tropical Medicine and International Health, 20(9),1213-1222.
 16. Forsell J, Granlund M, Samuelsson L, Koskiniemi S, Edebro H, Evengård B. 2016. High occurrence of *Blastocystis* sp. subtypes 1-3 and *Giardia intestinalis* assemblage B among patients in Zanzibar, Tanzania. Parasites and Vectors, 9(1),370.
 17. Frickmann H, Warnke P, Frey C, Schmidt S, Janke C, Erkens K, Schotte U, Köller T, Maaßen W, Podbielski A, Binder A, Hinz R, Queyriaux B, Wiemer D, Schwarz NG, Hagen RM. 2015. Surveillance of food- and smear-transmitted pathogens in european soldiers with diarrhea on deployment in the tropics: experience from the European Union Training Mission (EUTM) Mali. BioMed Research International, 2015, 573904.

18. Guilavogui T, Verdun S, Koïvogui A, Viscogliosi E, Certad G. 2023. Prevalence of intestinal parasitosis in guinea: systematic review of the literature and meta-analysis. *Pathogens*, 12(2), 336.
19. H. Tamrat, Y. Tekle , M. Hailemeleket NB. 2024. Prevalence and associated risk factors of *Cryptosporidium* infection in calves and hospitalized humans in Libo Kemkem, North Western Ethiopia. *Veterinary Medicine and Science*, 10(5):e700.
20. Hailu AW, Degarege A, Adamu H, Costa D, Villier V, Mouhajir A, Favennec L, Razakandrainibe R, Petros B. 2021. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from humans in Ethiopia. *PLoS ONE*, 16(6),e0253186.
21. Ikeh EI, Obadofin MO, Brindeiro B, Baugherb C, Frost F, Vanderjagt D, Glew RH. 2007. Intestinal parasitism in Magama Gumau rural village and Jos township in north central Nigeria. *The Nigerian Postgraduate Medical Journal*, 14(4),290-295.
22. Jasuja JK, Bub F, Veit J, Fofana HKM, Sacko M, Saye R, Chatigre JK, N’Goran EK, Yao JA, Khanal B, Koirala K, Bhattarai NR, Rijal S, Müller L von, Bottieau E, Boelaert M, Chappuis F, Polman K, Utzinger J, Becker SL. 2024. Multiplex PCR for bacterial, viral and protozoal pathogens in persistent diarrhoea or persistent abdominal pain in Côte d’Ivoire, Mali and Nepal. *Scientific Reports*, 14, 10926.
23. Khalil IA, Troeger C, Rao PC, Blacker BF, Brown A, Brewer TG, Colombara DV, De Hostos EL, Engmann C, Guerrant RL, Haque R, Houpt ER, Kang G, Korpe PS, Kotloff KL, Lima AAM, Petri WA Jr, Platts-Mills JA, Shoultz DA, Forouzanfar MH, Hay SI, Reiner RC Jr, Mokdad AH. 2018. Morbidity, mortality, and long-term consequences associated with diarrhoea from *Cryptosporidium* infection in children younger than 5 years: a meta-analyses study. *Lancet Global Health*, 6(7),e758-e768.
24. Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, Nasrin D, Farag TH, Panchalingam S, Wu Y, Sow SO, Sur D, Breiman RF, Faruque AS, Zaidi AK, Saha D, Alonso PL, Tamboura B, Sanogo D, Onwuchekwa U, Manna B, Ramamurthy T, Kanungo S, Ochieng JB, Omere R, Oundo JO, Hossain A, Das SK, Ahmed S, Qureshi S, Quadri F, Adegbola RA, Antonio M, Hossain MJ, Akinsola A, Mandomando I, Nhampossa T, Acácio S, Biswas K, O’Reilly CE, Mintz ED, Berkeley LY, Muhsen K, Sommerfelt H, Robins-Browne RM, Levine MM. 2013. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet*, 382, 209–222.

25. Krumkamp R, Aldrich C, Maiga-Ascofare O, Mbwana J, Rakotozandrindrainy N, Borrmann S, Caccio SM, Rakotozandrindrainy R, Adegnika AA, Lusingu JPA, Amuasi J, May J, Eibach D, Stark T, Dekker D, Jaeger A, Hogan B, Lamshöft M, Thye T, Schuldt K, Winter D, Tannich E, Rohmann C, Melhem S, Boahen KG, Akenten CW, Sarpong N, Oppong K, Schares G, Conraths F, Kremsner PG, Manouana P, Mbong M, Byrne N, Gesase S, Minja DTR, Sannella AR. 2021. Transmission of *Cryptosporidium* species among human and animal local contact networks in Sub-Saharan Africa: A Multicountry Study. *Clinical Infectious Diseases*, 72.
26. Lee J Der, Chiu ML, Chung L yi, Yen CM. 2004. Prevalence of *Cryptosporidium* for foreign workers in taiwan. *Tropical Doctor*, 34(3),185-6.
27. Madi SB. 2019. *Cryptosporidium* spp., prevalence, molecular characterisation and socio-demographic risk factors among immigrants in Qatar. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(10):e0007750.
28. Maikai B V., Umoh JU, Kwaga JKP, Lawal IA, Maikai VA, Cama V, Xiao L. 2011. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in native breeds of cattle in Kaduna State, Nigeria. *Veterinary Parasitology*, 178(3-4),241-245.
29. Masungu P, Dube T, Makaka C. 2010. A survey of the diversity of human enteric protoctistan parasites and the associated risk factors in urban Zvishavane, Zimbabwe. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(5): 985-991.
30. Mølbak K, Højlyng N, Gottschau A, Sá JCC, Ingholt L, Silva APJ Da, Aaby P. 1993. Cryptosporidiosis in infancy and childhood mortality in Guinea Bissau, West Africa. *British Medical Journal*, 307(6901),417-420.
31. Ngobeni R, Gilchrist C, Samie A. 2022. Prevalence and distribution of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia lamblia* in rural and urban communities of South Africa. *Turkiye Parazitoloji Dergisi*, 46(1),14-19.
32. O'Connor RM, Shaffie R, Kang G, Ward HD. 2011. Cryptosporidiosis in patients with HIV/AIDS. *AIDS*, 25(5),549-560.
33. Osman M, Safadi D El, Benamrouz S, Guyot K, Dei-Cas E, Aliouat EM, Creusy C, Mallat H, Hamze M, Dabboussi F, Viscogliosi E, Certad G. 2015. Initial data on the molecular epidemiology of cryptosporidiosis in Lebanon. *PLoS ONE*, 10, e0125129.
34. Parsons MB, Travis D, Lonsdorf E V., Lipende I, Roellig DMA, Kamenya S, Zhang H, Xiao L, Gillespie TR. 2015. Epidemiology and molecular characterization of *Cryptosporidium*

- spp. in humans, wild primates, and domesticated animals in the greater gombe ecosystem, Tanzania. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(2):e0003529.
35. Prabakaran M, Weible LJ, Champlain JD, Jiang RY, Biondi K, Weil AA, Voorhis WC Van, Ojo KK. 2023. The gut-wrenching effects of cryptosporidiosis and giardiasis in children. *Microorganisms*, 11(9):2323.
 36. Richardson DJ, Callahan KD, Dondji B, Tsekeng P, Richardson KE. 2011. Prevalence of waterborne protozoan parasites in two rural villages in the west province of Cameroon. *Comparative Parasitology*, 78, 180–184.
 37. Robertson LJ, Johansen ØH, Kifleyohannes T, Efunshile AM, Terefe G. 2020. *Cryptosporidium* Infections in Africa—how important is zoonotic transmission? a review of the evidence. *Frontiers in Veterinary Science*, 7,575881.
 38. Ryan U, Zahedi A, Feng Y, Xiao L. 2021. An update on zoonotic *Cryptosporidium* species and genotypes in humans. *Animals*, 11(11),3307.
 39. Sahimin N, Douadi B, Yvonne Lim AL, Behnke JM, Mohd Zain SN. 2018. Distribution of *Giardia duodenalis* (Assemblages A and B) and *Cryptosporidium parvum* amongst migrant workers in Peninsular Malaysia. *Acta Tropica*, 182,178-184.
 40. Salyer SJ, Gillespie TR, Rwego IB, Chapman CA, Goldberg TL. 2012. Epidemiology and molecular relationships of *Cryptosporidium* spp. in people, primates, and livestock from Western Uganda. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(4):e1597.
 41. Sangaré I, Bamba S, Cissé M, Zida A, Bamogo R, Sirima C, Yaméogo BK, Sanou R, Drabo F, Dabiré RK, Guiguemdé RT. 2015. Prevalence of intestinal opportunistic parasites infections in the University hospital of Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. *Infectious Diseases of Poverty*, 4, 32.
 42. Sim S, Yu JR, Lee YH, Lee JS, Jeong HG, Saed Mohamed AAW, Hong ST. 2015. Prevalence of *Cryptosporidium* infection among inhabitants of 2 rural areas in White Nile state, Sudan. *Korean Journal of Parasitology*, 53(6),745-747.
 43. Siwila J, Phiri IGK, Vercruyse J, Goma F, Gabriel S, Claerebout E, Geurden T. 2007. Asymptomatic cryptosporidiosis in Zambian dairy farm workers and their household members. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101(7):733-734.
 44. Spencer LA, Irwin MT. 2020. *Cryptosporidium* and *Giardia* prevalence amongst lemurs, humans, domestic animals and black rats in Tsinjoarivo, Madagascar. *Heliyon*,

6(11):e05604.

45. Squire SA, Ryan U. 2017. *Cryptosporidium* and *Giardia* in Africa: current and future challenges. *Parasites and Vectors*, 10(1),195.
46. Squire SA, Yang R, Robertson I, Ayi I, Ryan U. 2017. Molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* in farmers and their ruminant livestock from the Coastal Savannah zone of Ghana. *Infection, Genetics and Evolution*, 55:236-224.
47. Tumwine JK, Kekitiinwa A, Nabukeera N, Akiyoshi DE, Rich SM, Widmer G, Feng X, Tzipori S. 2003. *Cryptosporidium parvum* in children with diarrhea in Mulago Hospital, Kampala, Uganda. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68(6),710-715.
48. Wojcik GL, Korpe P, Marie C, Mentzer AJ, Carstensen T, Mychaleckyj J, Kirkpatrick BD, Rich SS, Concannon P, Faruque ASG, Haque R, Petri WA, Duggal P. 2020. Genome-wide association study of cryptosporidiosis in infants implicates PRKCA. *MBio*, 11(1),e03343-19.
49. Xiao L, Morgan UM, Limor J, Escalante A, Arrowood M, Shulaw W, Thompson RCA, Fayer R, Lal AA. 1999. Genetic diversity within *Cryptosporidium parvum* and related *Cryptosporidium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3386–3391.
50. Zahedi A, Ryan U. 2020. *Cryptosporidium* – An update with an emphasis on foodborne and waterborne transmission. *Research in Veterinary Science*, 132,500-512.

Article 5 : Impact de *Blastocystis* sp. sur le microbiote intestinal des patients Guinéens

Ce travail qui est coordonné par Magali Chabé de mon équipe d'accueil se base sur nos résultats de l'étude épidémiologique concernant la prévalence de *Blastocystis* sp. en Guinée et vise à analyser l'impact de ce protozoaire sur le microbiote intestinal d'individus guinéens colonisés. L'article correspondant est en préparation et une première version en français est présentée ci-dessous. Ce papier en cours de finalisation sera soumis début 2025 à une revue internationale. Ma contribution personnelle a été plus limitée que pour les autres articles et de ce fait je ne serai que co-auteur de ce papier.

Introduction

Du fait de la forte prévalence de *Blastocystis* sp. dans la population guinéenne (78%), de la diversité des STs identifiés et de la présence rare du ST14 (3,4% des échantillons positifs), nous avons souhaité étudier l'impact de la colonisation par ce protozoaire sur la diversité et la composition du microbiote intestinal humain. En effet, il est à présent admis que la colonisation chez l'Homme par les STs anthroponotiques de *Blastocystis* sp. (ST1-ST4) est associée à un impact positif sur la composition du microbiote intestinal bactérien, et à une augmentation de la diversité bactérienne (Audebert et al., 2016, Aykur et al., 2024). Ainsi, il semblerait que *Blastocystis* sp. ne soit pas associé à la dysbiose intestinale typiquement observée chez les patients atteints de maladies métaboliques ou infectieuses, mais plutôt à un microbiote intestinal sain. Par ailleurs, très peu d'études se sont intéressées à l'impact de la colonisation par *Blastocystis* sp. sur la composante eucaryotique du microbiote intestinal. Le but de ce projet était donc de caractériser et comparer la diversité et la composition des microbiotes intestinaux bactériens et eucaryotiques d'individus Guinéens, colonisés ou non par divers STs de *Blastocystis* sp.

Matériels et méthodes

Au total, 96 échantillons fécaux d'individus Guinéens de Conakry âgés de 3 à 83 ans (âge moyen de 26 ans), dont 32 *Blastocystis* sp.-négatifs et 64 *Blastocystis* sp.-positifs, ont été sélectionnés pour réaliser les analyses métagénomiques ciblant l'ADNr 16S, pour la composante bactérienne, et l'ADNr 18S, pour la composante eucaryotique. Les 96 échantillons de selles sélectionnés correspondent à des sujets non traités au moment du prélèvement et

préalablement identifiés comme porteurs de *Blastocystis* sp. ST1 (17 individus), ST2 (17 individus), ST3 (18 individus), ST4 (2 individus) ou ST14 (10 individus), ainsi que des sujets non porteurs du protozoaire (32 individus). La recherche d'autres parasites chez ces 96 sujets s'est avérée négative. Les séquençages ARNr 16S et ARNr 18S sur MiSeq (Illumina) ont été effectués grâce à notre collaboration avec GD Biotech à l'Institut Pasteur de Lille et analysés par Shengyi Lu, une étudiante en M2R, Univ. Sorbonne (Paris) qui a réalisé son stage dans notre laboratoire sous la direction de Magali Chabé. Les analyses différentielles de la diversité et de la composition bactérienne ou eucaryotique des différents groupes de patients, colonisés ou non par *Blastocystis* sp., nous ont été mises à disposition dans un outil de visualisation appelé MICIV (<https://www.gdbiotech.eu/2023/02/20/new-version-of-miciv/>).

Concernant le séquençage de l'ADNr 18S, un premier séquençage avait déjà été réalisé avec des amorces disponibles chez nos collaborateurs, mais celles-ci se sont révélées non-optimales pour un séquençage exhaustif des eucaryotes intestinaux humains, car ciblant les protozoaires intestinaux de bovins. Ainsi, le séquençage à haut-débit du gène codant l'ARNr 18S a été réitéré avec des amorces génériques décrites par Hadziavdic et al. (2014).

Résultats

Microbiote intestinal bactérien

Une totalité de 96 échantillons fécaux provenant d'individus Guinéens a été analysée par approche métagénomique 16S afin d'étudier l'impact de la colonisation par *Blastocystis* sp. sur le microbiote intestinal bactérien humain. Parmi les 96 échantillons, l'un d'entre eux n'a pas été analysé par manque d'ADN en quantité suffisante. Les analyses suivantes ont donc été réalisées sur 95 échantillons (64 positifs pour *Blastocystis* sp. et 31 négatifs pour le protozoaire).

Alpha-diversité bactérienne

L'analyse secondaire des données de séquençage à haut-débit 16S a permis de mettre en évidence que la colonisation par *Blastocystis* sp. était associée à une plus grande alpha diversité bactérienne. En effet, l'indice Faith's PD était significativement plus élevé chez les individus *Blastocystis* sp.-positifs en comparaison des individus *Blastocystis* sp.-négatifs (test de Mann-Whitney-Wilcoxon, p -value = $4,86 \cdot 10^{-4}$) (Figure 1).

● Faith PD

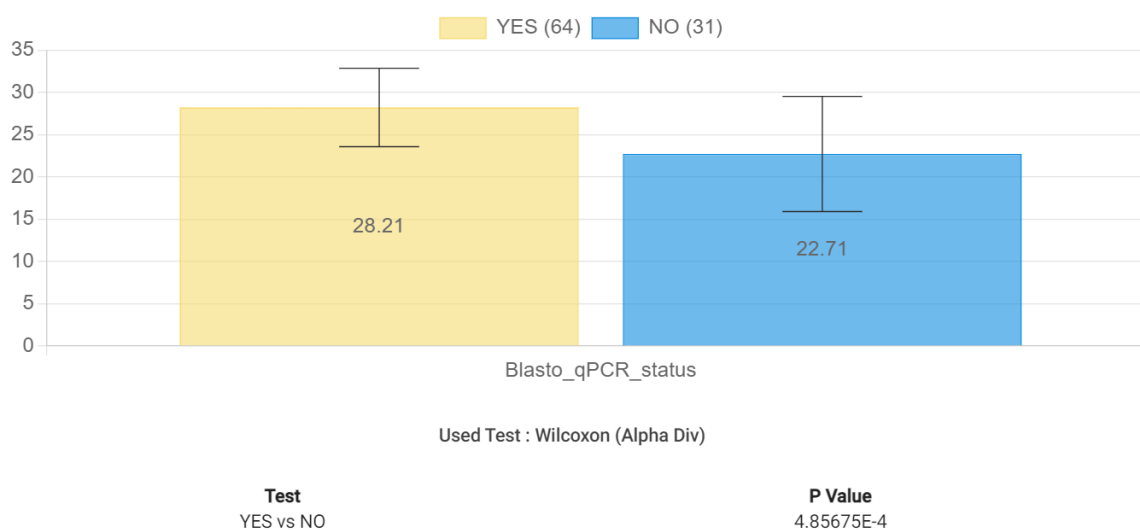


Figure 1. Boxplots représentant les valeurs d'alpha-diversité bactérienne (indice Faith's PD) des individus colonisés par *Blastocystis* sp. (YES) ou non-colonisés (NO). Les analyses statistiques ont été réalisées grâce au test de Mann-Whitney-Wilcoxon. Le nombre total d'individus inclus dans les analyses pour chaque condition est indiqué au-dessus des boxplots.

Si on compare ensuite la diversité bactérienne des individus colonisés par différents STs de *Blastocystis* sp., qui ont été mis en évidence par séquençage Sanger des produits de la qPCR avant permis de les détecter, on observe qu'il n'y a pas de différence significative entre l'alpha-diversité des sujets colonisés par les ST1, ST2 ou ST3 de *Blastocystis* sp. (p -value $> 0,05$), mais que l'indice Faith's PD est significativement plus élevé chez les individus colonisés par les ST1, ST2 ou ST3 de *Blastocystis* sp. en comparaison des individus colonisés par le ST14 (test de Mann-Whitney-Wilcoxon, p -value = $5,20 \cdot 10^{-2}$ (ST1 vs ST14) ; $1,51 \cdot 10^{-2}$ (ST2 vs ST14) ; $3,04 \cdot 10^{-3}$ (ST3 vs ST14)), la colonisation par le ST14 de *Blastocystis* semblant ainsi être associée à une plus faible diversité bactérienne par rapport à la colonisation par les autres STs (Figure 2). Les deux individus colonisés par du ST4 n'ont pas été pris en compte dans cette analyse. De plus, aucune différence significative de l'alpha-diversité bactérienne n'a été observée en fonction de l'âge des Guinéens ou de la présence des symptômes digestifs.

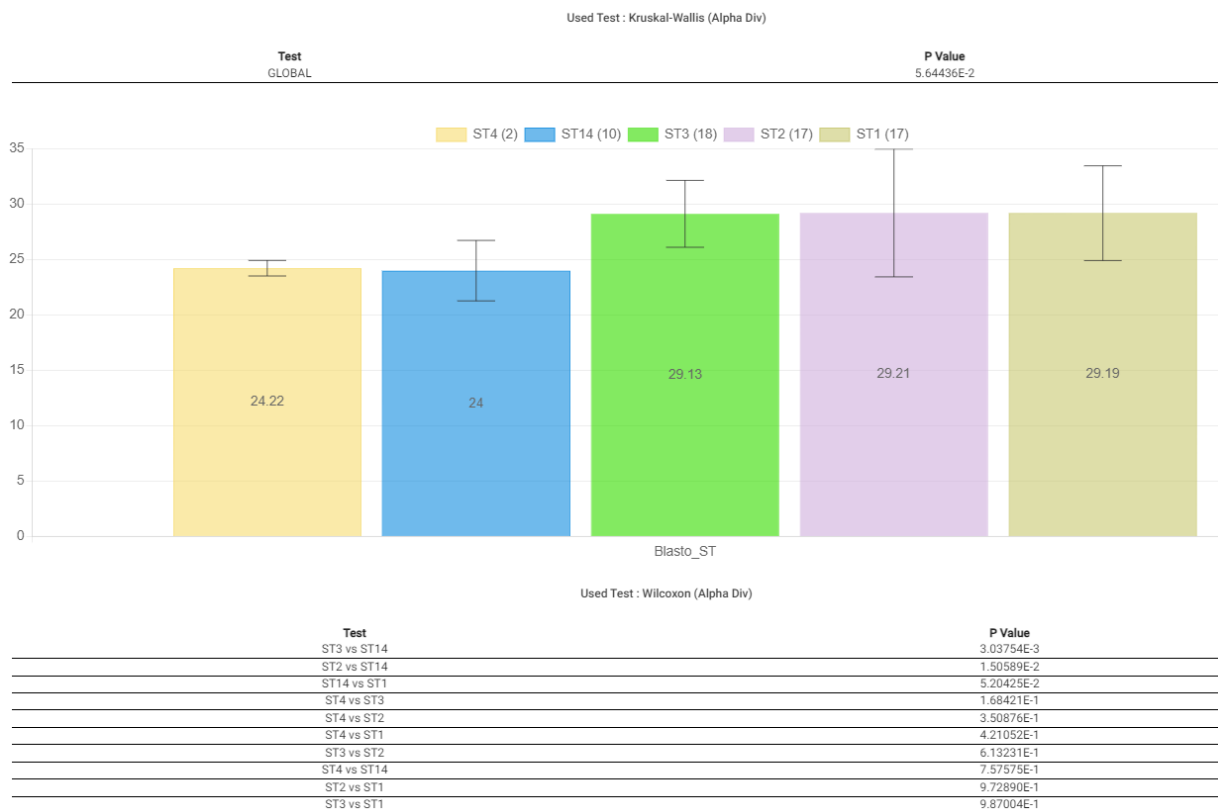


Figure 2. Boxplots représentant les valeurs d'alpha-diversité bactérienne (indice Faith's PD) des individus colonisés par différents STs de *Blastocystis* sp. Les analyses statistiques ont été réalisées grâce au test de Mann-Whitney-Wilcoxon (MWW) et les résultats significatifs (p -value < 0,05) sont indiqués par leur p -value. Le nombre total d'individus inclus dans les analyses pour chaque condition est indiqué au-dessus des boxplots. La moyenne de l'indice pour chaque groupe est indiquée sur les boxplots.

Bêta-diversité bactérienne

Afin d'explorer les différences dans la composition globale de la communauté microbienne des deux groupes d'individus, colonisés ou non par *Blastocystis* sp., les indices de dissimilarités de Bray-Curtis ont été calculés. Lorsque les sujets ont été classés en fonction de leur statut de colonisation par *Blastocystis* sp., les diagrammes PCoA (Principal Coordinate Analysis) obtenus à partir des calculs de beta-diversité en utilisant le test statistique non-paramétrique PERMANOVA (Permutational multivariate analysis of variance) dans QIIME2 ont montré un regroupement relatif des échantillons. La différence entre les communautés bactériennes des individus *Blastocystis* sp.-positifs et *Blastocystis* sp.-négatifs n'était cependant pas significative, avec une p -value égale à $1,72 \cdot 10^{-1}$.

Composition du microbiote bactérien intestinal

La composition du microbiote fécal bactérien des patients colonisés par *Blastocystis* sp. et des patients exempts de *Blastocystis* sp. a été examinée plus en détail. Au niveau des phyla, les Firmicutes, les Bacteroidota et les Proteobacteria étaient les taxa prédominants dans les échantillons fécaux de tous les patients. Ils représentaient plus de 95 % des bactéries dans tous les groupes. On retrouve plus de Firmicutes mais moins de Bacteroidota et de Proteobacteria chez les individus colonisés par *Blastocystis* sp. en comparaison avec les individus non-colonisés, même si ces résultats ne sont pas significatifs (p -value > 0,05). De plus, nous avons observé que le ratio Firmicutes/Bacteroidota était plus élevé chez les individus *Blastocystis* sp.-positifs (ratio F/B = 4,28 pour les *Blastocystis* sp.-positifs et ratio F/B = 3,76 pour les *Blastocystis* sp.-négatifs). Les Spirochaetota sont absents chez les individus *Blastocystis* sp.-négatifs et les Fusobacteriota sont très peu présents chez les individus *Blastocystis* sp.-positifs. Au niveau des ordres, des familles et des genres (Figure 3), la composition bactérienne des échantillons entre les 2 groupes *Blastocystis* sp.-positifs et *Blastocystis* sp.-négatifs a montré plusieurs différences significatives. Les genres *Escherichia-Shigella* et *Clostridia_vadinBB60_group* étaient enrichis chez les sujets *Blastocystis* sp.-négatifs (p -value < 0,05), tandis que les genres *Ruminococcus*, *Coprococcus* et *Butyrivibrio*, connues pour produire du butyrate, étaient plus prévalents chez les sujets colonisés (p -value < 0,05).

Quelques différences d'abondances relatives des bactéries dans le microbiote fécal des sujets positifs ou négatifs à *Blastocystis* sp. ont également été identifiées en fonction des STs de ce protozoaire. Au niveau des phyla, beaucoup de taxa bactériens étaient différenciellement abondants (p -value < 0,05) selon le ST comme les Firmicutes, Actinobacteriota, Cyanobacteria, Desulfobacterota et Verrucomicrobiota. Chez les individus colonisés par le ST3, le genre *Faecalibacterium* et le genre UCG-002 (Famille des Oscillospiraceae) présentaient une abondance relative significativement plus grande que les sujets non-colonisés par ce ST3. Pour les patients colonisés par le ST2, une abondance relative plus élevée des UCG-010 (Ordre des Oscillospirales) et UCG-005 (Famille des Oscillospiraceae) a été retrouvée en comparaison des patients non-colonisés (p -value < 0,05). La même situation a été constatée chez les patients colonisés par le ST1 (p -value < 0,05).

		P.value	YES	NO
↑	g__Prevotella	0,246909192	0,1183	0,108
↑	g__UCG-010	8,70559E-07*	0,0425	0,0081
↑	g__UCG-002	0,002428091*	0,0338	0,026
↓	g__Bacteroides	0,076196718	0,0277	0,0623
↑	g__Ruminococcus	1,26242E-08*	0,0276	0,0071
↓	g__Clostridia_vadinBB60_group	1,2391E-05*	0,0224	0,0237
↑	g__UCG-005	0,001568121*	0,02	0,0129
↑	g__Subdoligranulum	0,023199154	0,0186	0,0166
↑	g__Succinivibrio	0,040181227	0,0152	0,0063
↑	g__[Eubacterium]_coprostanoligenes_group	0,002214426*	0,015	0,0116
↓	g__Escherichia-Shigella	0,021451672	0,0124	0,0314
↑	g__Coprococcus	0,020699253	0,0094	0,0074
↑	g__Butyrivibrio	0,000198697*	0,0061	0,001
↑	g__[Eubacterium]_hallii_group	0,059107345	0,0051	0,0038
↑	g__Dialister	0,228163687	0,0051	0,0048
↑	g__Phascolarctobacterium	0,046945617	0,0049	0,0031
↑	g__Treponema	0,113735117	0,0023	0
↓	g__[Ruminococcus]_gnavus_group	0,126372493	0,0021	0,0138
↑	g__[Ruminococcus]_torques_group	0,334600512	0,009	0,0079

*Still significant after FDR correction

Figure 3. Différences significatives (p -value < 0,05) des abondances relatives de taxa bactériens au niveau du Genre entre les échantillons fécaux d'individus Guinéens colonisés par *Blastocystis* sp. (YES) ou non-colonisés (NO) grâce au test ANCOM-BC. Les p -values affichées sont celles retrouvées après correction FDR (False Discovery Rate). * : p -values toujours significatives après correction FDR.

Microbiote intestinal eucaryotique

A la suite de ce séquençage du microbiote bactérien, un séquençage à haut-débit sur MiSeq (Illumina) de ces 96 échantillons a été réalisé grâce à des amorces ciblant une région du gène de l'ARNr 18S, en précisant que ces amorces avaient à l'origine été déterminées dans notre laboratoire pour réaliser un séquençage NGS des protozoaires intestinaux chez la vache. Même si ces amorces ne nous permettaient pas d'avoir une image globale de la diversité eucaryotique du microbiote intestinal des individus Guinéens, ce séquençage NGS nous a tout de même permis de mettre en évidence la présence de *Blastocystis* sp., de divers champignons et de nombreuses espèces d'eucaryotes dont le protozoaire cilié *Buxonella sulcata*, généralement retrouvé chez les bovins. De plus, ce premier séquençage NGS 18S a permis de mettre en évidence les infections mixtes par les STs de *Blastocystis* sp.. Nous avons retrouvé une cohérence globale des STs majoritaires identifiés par séquençage Sanger et NGS chez les 96 individus. Ainsi, 37/64 (57,8 %) des sujets colonisés ne portaient qu'un seul ST, 19/64 (29,7 %) étaient colonisés par plusieurs STs (ST2 ou ST3) et 8/64 (12,5%) ont montré une divergence

de ST entre le séquençage Sanger et le NGS. De façon intéressante, ces divergences concernaient les individus colonisés par le ST4 ou le ST14 selon le séquençage Sanger. Suite à ces résultats, un nouveau séquençage à haut-débit de l'ADNr 18S a été réalisé, grâce à des amorces plus universelles (Hadziadvic et al., 2014). L'analyse secondaire des données métagénomiques 18S a été réalisée sur 75 échantillons (57 *Blastocystis*-positif et 18 *Blastocystis*-négatif).

Alpha-diversité

Tout comme le séquençage haut-débit de l'ADNr 16S, le test de Mann-Whitney-Wilcoxon a été utilisé pour comparer les indices de richesse et de diversité eucaryotique entre les échantillons des individus colonisés par *Blastocystis* sp. et ceux des individus non-colonisés. L'analyse de l'indice de diversité de Shannon a mis en évidence que la diversité de l'eucaryome fécal des individus colonisés semble moins élevée que celle observée chez les sujets non-colonisés, mais ce résultat n'était pas significatif (p -value = 0,27). Le même résultat a été obtenu pour l'indice des OTUs observés et l'indice Faith's PD (p -value = 0,99 ; p -value = 0,93, respectivement). Ces données indiquent qu'il n'y a pas de différence significative pour la diversité eucaryotique chez les patients colonisés ou non par *Blastocystis* sp. Par contre, la colonisation par le ST14 de *Blastocystis* sp. semble être associée à une plus grande diversité eucaryotique en comparaison de la diversité retrouvée chez les individus colonisés par les ST1, ST2 et ST3 (Figure 4). De plus, aucune différence significative n'a été observée pour l'alpha-diversité eucaryotique en fonction de la présence ou de l'absence des symptômes digestifs.

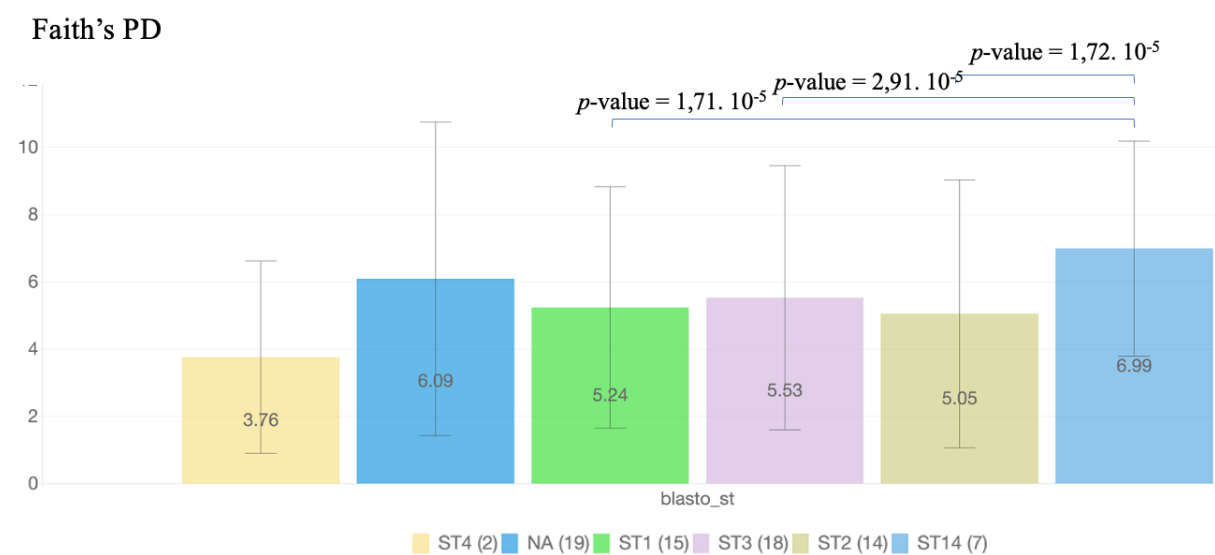


Figure 4. Boxplots représentant les valeurs d'alpha-diversité eucaryotique (indice Faith's PD) des individus colonisés par différents STs de *Blastocystis* sp. ou non-colonisés (NA). Les analyses statistiques ont été réalisées grâce au test de Mann-Whitney-Wilcoxon (MWW) et les résultats significatifs (p -value < 0,05) sont indiqués par leur p -value. Le nombre total d'individus inclus dans les analyses pour chaque condition est indiqué sous les boxplots.

Bêta-diversité

Les diagrammes PCoA (Principal Coordinate Analysis) obtenus à partir du calcul de la bêta-diversité en utilisant le test statistique non-paramétrique PERMANOVA dans QIIME2 ont mis en évidence un regroupement relatif des échantillons séparés selon leur statut de colonisation par *Blastocystis* sp. Cette différence entre les deux communautés eucaryotiques était significative (p -value = $1,00 \cdot 10^{-3}$).

Composition de l'eucaryome intestinal

Globalement, les Fungi (champignons) représentaient la plus grande fraction, en termes d'abondance, du microbiote eucaryotique des individus Guinéens analysés (49,6 %), suivis par *Blastocystis* sp. (41,9 %) (Figure 5).

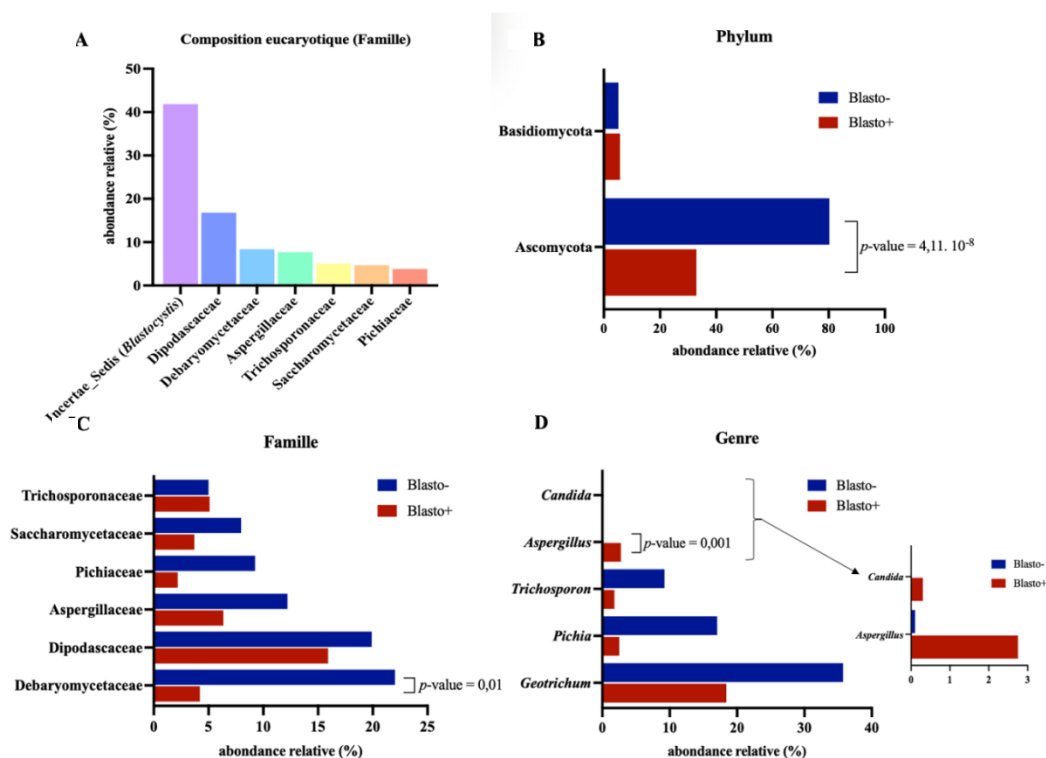


Figure 5. Analyse de la composition eucaryotique au niveau des principaux taxa observés après le séquençage de l'ADNr 18S chez les individus Guinéens colonisés par *Blastocystis* sp. (Blasto+) ou non-colonisés (Blasto-). Les valeurs de *p*-value ont été calculées en utilisant le test différentiel ANCOM-BC et les résultats significatifs sont indiqués. **A** : Abondances relatives des principales familles d'eucaryotes retrouvées chez tous les individus Guinéens. **B** : Comparaison de l'abondance relative des champignons au niveau du Phylum chez les individus Blasto+ (rouge) et Blasto- (bleu). **C** : Comparaison de l'abondance relative des familles de champignons chez les individus Blasto+ (rouge) et Blasto- (bleu). **D** : Comparaison de l'abondance relative des Genres de champignons chez les individus Blasto+ (rouge) et Blasto- (bleu).

Concernant les champignons, ce sont, de façon attendue, les phyla Ascomycota et Basidiomycota qui ont été principalement retrouvés avec des abondances relatives respectives de 44% et 5,6%. Un total de 4 Classes de champignons (Saccharomycetes, Eurotiomycetes, Tremellomycetes, Sordariomycetes), 4 Ordres (Saccharomycetales, Eurotiales, Trichosporonales, Tremellales) ont pu être identifiés ainsi que 7 familles avec par ordre décroissant d'abondance, les Dipodascaceae, Debaryomycetaceae, Aspergillaceae, Trichosporonaceae, Saccharomycetaceae, Pichiaceae et Saccharomycetales *incertae sedis* (Figure 5A). Les genres *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Pichia*, *Trichosporon* et *Candida* étaient les plus abondants.

Les analyses différentielles de la composition eucaryotique entre les deux groupes d'individus colonisés ou non par *Blastocystis* sp. ont révélé une plus grande abondance relative d'Ascomycota chez les individus non-colonisés par *Blastocystis* sp. (80,2 %) par rapport aux sujets colonisés (32,9 %) (*p*-value = $4,11 \cdot 10^{-8}$) (Figure 4B). Concernant les genres fongiques, nous avons observé une abondance relative significativement plus grande du genre *Aspergillus* chez les sujets colonisés par *Blastocystis* sp. (2,75 %) par rapport aux sujets négatifs (0,01 %) (*p*-value = 0,01) (Figure 4D). L'abondance relative de *Candida* était également plus importante chez les individus colonisés mais sans que cette différence soit significative (Figure 4D). Les genres *Geotrichum*, *Pichia* et *Trichosporon* étaient eux moins abondants chez les sujets colonisés par *Blastocystis* sp. que chez les sujets non-colonisés (18,4 %, 2,5 % et 1,8 % dans le groupe colonisé contre 35,7 %, 17,0 % et 9,2 % dans le groupe des non-colonisés), mais ces différences n'étaient pas significatives (Figure 4D). Enfin, aucune différence significative

de l'abondance relative des taxa fongiques n'a été observée pour les individus colonisés par différents STs de *Blastocystis* sp.

Comparaison de la diversité génétique du genre *Blastocystis* observée par le séquençage Sanger et par le séquençage métagénomique 18S

Sachant que le séquençage Sanger et le séquençage à haut débit peuvent tous deux permettre un sous-typage des isolats de *Blastocystis* sp., il était donc intéressant de comparer les résultats obtenus selon ces deux techniques. Un ST unique de *Blastocystis* sp. a été retrouvé après séquençage Sanger des produits de qPCR pour les 57 individus diagnostiqués positifs. En analysant les STs identifiés par le séquençage à haut-débit de l'ADNr 18S, 37 individus parmi les 57 analysés (64,9 %) semblaient être colonisés par un seul ST et 14 autres individus semblaient être colonisés par au moins 2 STs de *Blastocystis* sp., même si les STs majoritaires étaient toujours présents à plus de 93 %. Pour ces colonisations par un seul ST, les résultats donnés par le séquençage haut-débit 18S étaient globalement concordants avec ceux du séquençage Sanger, mais quatre échantillons identifiés comme du ST4 ou du ST14 par Sanger étaient identifiés comme du ST1 ou du ST3 par le séquençage 18S à haut-débit. De plus, le sous-typage par séquençage à haut-débit n'a pas été possible pour 6 échantillons alors que le séquençage Sanger indiquait que ces individus étaient colonisés par du ST4 ou du ST14.

Discussion

Des approches métagénomiques ciblant l'ADNr 16S et l'ADNr 18S nous ont permis de confirmer l'association bénéfique entre la colonisation par *Blastocystis* sp. et le microbiote intestinal bactérien chez les individus Guinéens, alors que l'impact de la colonisation par ces protozoaires sur l'eucaryome intestinal semble beaucoup plus discret. D'après nos résultats, l'eucaryome des individus Guinéens est beaucoup moins diversifié que le microbiote bactérien, et est principalement constitué de *Blastocystis* sp. et de champignons, des résultats déjà décrits en 2008 par Scanlan et Marchesi qui avaient utilisé une technique de séquençage Sanger de produits de PCR et de clonage

Cependant, l'approche métagénomique 18S utilisée pendant ce travail ne nous a pas permis de capturer l'exhaustivité de la diversité eucaryotique du microbiote intestinal de ces individus et de nouvelles études seront nécessaires. Par exemple, il est surprenant de ne pas avoir détecté de protozoaires du genre *Entamoeba*, dont on sait que la prévalence est

généralement élevée dans les pays peu industrialisés (Even et al., 2011). Nous précisons ici que ce n'est d'ailleurs pas un problème de spécificité d'amorces car une analyse BLAST a confirmé que les amorces utilisées étaient bien censées amplifier les *Entamoeba*, tout comme les Helminthes classiquement retrouvés chez les individus Africains que nous n'avons pas non plus détectés dans notre étude. Par contre, nous étions agréablement surpris de constater l'absence d'amplification d'ADN humain, ce qui représente un écueil fréquent dans les analyses de l'eucaryome.

Notre projet a également permis de mettre en évidence l'intérêt d'utiliser le séquençage à haut-débit pour détecter la diversité génétique de *Blastocystis* sp. au sein d'un même individu puisque cette approche puissante améliore la détection des infections mixtes et des STs peu abondants de *Blastocystis* sp., par rapport au séquençage Sanger des produits de PCR classiquement utilisé. Nous nous sommes également aperçus que les STs identifiés comme du ST4 ou du ST14 par Sanger n'étaient pas retrouvés en séquençage métagénomique 18S. Soit le séquençage haut-débit identifiait du ST1 ou du ST3 pour ces échantillons ou alors aucun ST de *Blastocystis* sp. n'était détecté. Ces résultats permettraient peut-être d'expliquer que nous avons retrouvé, par rapport aux autres STs, une plus faible diversité bactérienne et une plus grande diversité eucaryotique du microbiote intestinal des individus considérés comme colonisés par du ST14 selon le séquençage Sanger.

Conclusion

Pour conclure, notre projet représente la première étude, effectuée en Guinée, de l'impact de la colonisation par *Blastocystis* sp. sur le microbiote intestinal. Cette colonisation a un impact significatif sur le microbiote intestinal bactérien, et un impact beaucoup moins prononcé sur le microbiote eucaryotique. Ce travail vient apporter une nouvelle preuve de l'impact bénéfique de *Blastocystis* sp. sur notre microbiote intestinal, la colonisation par le protozoaire étant associée à des effets positifs sur la diversité et la composition bactérienne de cet écosystème. Ces *Blastocystis*, tout du moins les ST1, ST2 et ST3 du protozoaire, seraient donc considérés comme des membres d'un microbiote intestinal sain. Afin de révéler si *Blastocystis* sp. est un simple biomarqueur de la bonne santé intestinale ou s'il joue un rôle pro-actif dans notre microbiote, des études *in vitro* et des études longitudinales dans un modèle animal avant et après inoculation du protozoaire seront nécessaires. Des études méta-transcriptomiques et métabolomiques pourraient également apporter des informations sur

les capacités fonctionnelles des microorganismes de notre microbiote intestinal. Il sera également intéressant d'évaluer l'impact des différents STs de *Blastocystis* sp. sur le microbiote intestinal humain, et ainsi de savoir si l'impact du protozoaire sur le microbiote intestinal est dépendant de sa diversité génétique. Enfin, il serait intéressant d'étudier l'impact de la colonisation simultanée par *Blastocystis* et d'autres protozoaires intestinaux, pathogènes ou non, afin d'observer leur effet cumulé sur la diversité et la composition du microbiote bactérien intestinal.

Discussion

Les données obtenues en Guinée dans le cadre de ma thèse que ce soit sur la prévalence des parasitoses intestinales, sur l'épidémiologie moléculaire des protozoaires entériques *Blastocystis* sp. et *Cryptosporidium* spp. ou sur l'impact de la colonisation par *Blastocystis* sp. sur le microbiote intestinal ont fait l'objet de larges discussions dans les articles correspondant (Articles 1 à 5). Aussi, dans ce chapitre de ma thèse, j'ai souhaité avoir une approche synthétique et ne faire ressortir que les principaux résultats de ces études.

Ma première revue (Article 1) du fait de mes activités au Ministère de la Santé guinéen avait pour but de synthétiser toutes les données disponibles concernant les maladies tropicales négligées (MTN) dans mon pays. Ces maladies touchent principalement les populations vulnérables et marginalisées dans les zones tropicales et subtropicales, et affectent plus d'un milliard de personnes dans le monde. Actuellement, le plan directeur des MTN de la Guinée (2017–2020) a identifié huit maladies comme des problèmes de santé publique : l'onchocercose, la filariose lymphatique, le trachome, la lèpre, la trypanosomiase humaine africaine et l'ulcère de Buruli, la schistosomiase et les géohelminthiases. Ces dernières incluent notamment les infections causées par des vers intestinaux (helminthiases) comme les ankylostomes, les ascaris, et le trichocéphale. Bien que les helminthiases entraînent rarement la mort, elles causent une morbidité élevée, avec des symptômes chroniques comme l'anémie, les douleurs abdominales, la malnutrition, et une altération du développement physique et cognitif, en particulier chez les enfants. Les régions touchées sont souvent économiquement défavorisées et ont des systèmes de santé fragiles. La prévalence élevée des infections intestinales met une pression supplémentaire sur ces infrastructures déjà limitées. Bien que des traitements efficaces existent, les initiatives de contrôle sont souvent irrégulières ou sous-financées. Des programmes de déparasitage de masse sont parfois mis en place, mais leur couverture et leur régularité varient, compromettant leur efficacité à long terme.

Dans cette première revue, les données sur les parasitoses intestinales étaient donc limitées à la schistosomiase et les géohelminthiases. Pour compléter ce panorama de ces infections en Guinée qui représentent un problème de santé publique majeur, j'ai donc souhaité mener une revue systématique et une méta-analyse estimant, pour la première fois, la prévalence globale de toutes les infections parasitaires intestinales dans ce pays (Article 2).

De plus, la recherche rigoureuse effectuée dans plusieurs bases de données et autres sources pour identifier les études éligibles, constitue l'un des atouts de cette revue. L'analyse a été basée sur des études publiées entre 2010 et 2020 et la prévalence globale des infections parasitaires intestinales est estimée à 52%, avec les femmes enceintes et les enfants comme groupes à risque. Les parasites les plus fréquents sont *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale* et *Schistosoma mansoni*. Une variabilité de la prévalence des parasites intestinaux selon les régions a pu être démontrée. Selon l'OMS, des programmes de chimiothérapie préventive à grande échelle sont nécessaires lorsque la prévalence de toute infection par des géohelminthes est supérieure à 20 %. De plus, cette prévention est recommandée deux fois par an lorsque la prévalence de base est supérieure à 50 %. Même si cette stratégie est l'un des piliers du programme national des MTN de la Guinée, le déparasitage n'est administré dans notre pays qu'une seule fois par an. De manière intéressante, cette méta-analyse nous a aussi permis de confirmer le manque de données en Guinée concernant l'épidémiologie des protozoaires intestinaux puisqu'aucune étude sur *Blastocystis* sp. n'a été recensée et seulement deux sur *Cryptosporidium* spp. ce qui nous a motivé dans notre décision de mener ce projet de thèse axé sur l'étude de ces deux protozoaires intestinaux d'où les études épidémiologiques menées sur le terrain.

Concernant *Blastocystis* sp., sa prévalence et donc son impact dans la population guinéenne restait une totale inconnue d'où l'intérêt crucial de mener une enquête dans ce pays (Article 3). Cela a pu être réalisé en recrutant des individus volontaires dans deux hôpitaux de la capitale Conakry en collaboration avec le personnel soignant. Ainsi, cette étude représente l'une des plus grandes enquêtes épidémiologiques réalisées à ce jour en Afrique avec celles conduites au Sénégal (Khaled et al., 2020) et en Egypte (Naguib et al., 2023). Même si l'Afrique peut être à juste titre considérée, pour différentes raisons, comme un continent à risque concernant les protozooses intestinales, peu de données sont finalement disponibles dans la littérature. Ces études à grande échelle incluant des nombres significatifs de participants apportent donc une contribution majeure à notre compréhension de la circulation de *Blastocystis* sp. dans les pays africains en développement.

La détection de ce protozoaire par des méthodes moléculaires dans les selles de 500 individus a permis de déterminer une prévalence avoisinant les 80% soulignant ainsi l'intense circulation de ce parasite dans la population guinéenne. Cette circulation intense n'est pas

spécifique de la Guinée puisque des prévalences du même ordre de grandeur sur des cohortes souvent plus réduites ont été rapportées dans plusieurs pays d’Afrique de l’Ouest comme la Côte d’Ivoire (Di Cristanziano et al., 2021), le Nigeria (Poulsen et al., 2016), le Liberia (Alfellani et al., 2013) ou bien encore le Sénégal (El Safadi et al., 2014 ; Khaled et al., 2020) (voir aussi Table 1 Analyse bibliographique et Table 4 Article 3). Il en est de même en Afrique Centrale comme au Cameroun (Lokmer et al., 2019 ; Even et al., 2021), en Afrique de l’Est comme en Tanzanie (Lokmer et al., 2019), en Afrique australe comme à Madagascar (Greigert et al., 2018) ou bien encore en Afrique du Nord comme en Egypte (Naguib et al., 2023). Si on analyse les autres données épidémiologiques en Afrique, on note en complément des valeurs de prévalence atteignant les 50% dans d’autres pays comme par exemple au Mali (Kodio et al., 2019), au Soudan (Cinek et al., 2021) ou au Maroc (Boutahar et al., 2024). Il est donc évident que même si des différences de prévalence de *Blastocystis* sp. peuvent exister entre pays africains en lien avec différents facteurs tels que les conditions climatiques, l’hygiène environnementale, les conditions socio-économiques ou la composition des cohortes étudiées, ces enquêtes mettent en avant une problématique majeure de santé publique liée à l’impact des protozooses digestives. Les fréquences de *Blastocystis* sp. rapportées dans ces pays sont donc sans aucun doute associées au péril fécal en lien avec les conditions précaires d’hygiène, d’assainissement et de la mauvaise qualité de l’eau potable. En comparaison, la prévalence de *Blastocystis* sp. est significativement plus faible dans les pays à haut revenu, notamment en Europe (El Safadi et al., 2016 ; Lhotska et al., 2020 ; Muadica et al., 2020) avec une prévalence moyenne de l’ordre de 20%.

Même si comme nous l’avons déjà mentionné, la plupart des individus colonisés par *Blastocystis* sp. sont asymptomatiques, la proportion des personnes pouvant développer des troubles digestifs en lien avec une colonisation par certains STs reste potentiellement importante du fait de la fréquence élevée de ce protozoaire dans la population africaine. En outre, comme *Blastocystis* sp. peut être considéré comme une véritable sentinelle de la contamination fécale environnementale, une fréquence importante de ce protozoaire peut aussi refléter une circulation active d’autres parasites entériques à transmission oro-fécale par voie hydrique.

Cette enquête menée en Guinée a aussi cherché à identifier d’éventuels facteurs de risque d’infection à travers l’analyse statistique des données collectées pour chaque participant. Ainsi, si un contact avec des animaux n’a pas été identifié comme un facteur de

risque, ce ne fut pas en revanche le cas de l'âge des individus puisque la prévalence la plus forte a été observée chez les individus de moins de 30 ans. Dans la littérature, l'impact de ce facteur sur l'infection par *Blastocystis* sp. est extrêmement contradictoire d'une enquête à l'autre en Afrique (Poulsen et al., 2016 ; D'Alfonso et al., 2017) et ne peut guère donc être pris en compte pour ce protozoaire au contraire d'autres parasites entériques comme *Cryptosporidium* spp. Cependant, la prévalence plus élevée observée dans notre étude chez les plus jeunes pourrait probablement s'expliquer par des pratiques d'hygiène inadaptées, telles que le manque de lavage des mains avant les repas ou après l'utilisation des toilettes, la propreté des ongles, la défécation en plein air ou le jeu dans de l'eau contaminée, ce qui peut entraîner des réinfections fréquentes par différentes sources. De plus, la promiscuité dans les écoles peut aussi représenter un facteur supplémentaire facilitant la transmission du parasite. Une fréquence plus faible de *Blastocystis* sp. chez les adultes pourrait quant à elle être dû à une meilleure compréhension et application des mesures d'hygiène personnelle. Un autre facteur assez logique favorisant l'infection d'un parasite hydrique comme *Blastocystis* sp. était la consommation d'eau de forage non traitée.

Il est intéressant aussi de noter que *Blastocystis* sp. n'était pas plus fréquent dans le groupe des individus symptomatiques présentant des troubles digestifs, tels que diarrhée, douleurs abdominales ou constipation. En fait, cela corrélait les données obtenues par exemple à Madagascar (Greigert et al., 2016), en Tanzanie (Forsell et al., 2016) ou en Côte d'Ivoire (D'Alfonso et al., 2017) où aucune association claire entre l'infection par *Blastocystis* sp. et le développement de troubles gastro-intestinaux a été mise en évidence. Cependant, une telle corrélation est difficile à démontrer dans les enquêtes menées dans les pays africains dont les populations sont souvent co-colonisées par d'autres protozoaires intestinaux (*Giardia*, *Cryptosporidium* et *Entamoeba*, entre autres) (Forsell et al., 2016 ; Lebba et al., 2016 ; Greigert et al., 2018) qui peuvent provoquer les mêmes symptômes digestifs que ceux associés à l'infection par *Blastocystis* sp.

Concernant la distribution des STs présents dans la population guinéenne, le ST3 était prédominant suivi par ordre d'importance du ST1, du ST2, du ST14 et du ST4. La prédominance des ST1 à ST3 est en fait commune à tous les pays africains étudiés même si des différences apparaissent quant au ST prédominant (Khaled et al., 2020 ; Naguib et al., 2023) (voir aussi Table 1 Analyse bibliographique et Table 4 Article 3). Si on considère globalement les STs majeurs identifiés comme anthroponotiques (ST1 à ST3), ils représentaient près de 96% des

isolats caractérisés en Guinée. Comme calculé dans notre étude en synthétisant toutes les données disponibles, ces trois mêmes STs représentent 95% des isolats sous-typés à ce jour en Afrique. Même si ces trois STs peuvent être trouvés chez certains animaux avec une fréquence très variable (Hublin et al., 2021), ils colonisent principalement les humains, indépendamment de l'origine géographique de la population (Alfellani et al., 2013), ce qui reflète une transmission interhumaine de grande ampleur de ces STs. Le ST4 quant à lui n'est que peu représenté en Guinée comme globalement en Afrique alors qu'il est fréquent en Europe (Alfellani et al., 2013 ; El Safadi et al., 2016) confirmant l'hypothèse d'une émergence récente de ce ST au sein de la population européenne (Clark et al., 2013).

Un dernier point intéressant de notre enquête est l'identification d'isolats de ST14 dans notre cohorte guinéenne et ce, dans une proportion significative (3,4 %). Avec le ST10, le ST14 est le ST le plus largement distribué chez les bovins et, plus globalement chez les herbivores ruminants (Hublin et al., 2021). Ces deux STs sont donc considérés comme adaptés à ce groupe d'animaux. Ainsi, les bovins vivant à proximité des habitations représentaient des sources potentielles de transmission zoonotique dans la population guinéenne. Cependant, 9 des 10 participants colonisés par le ST14 n'ont déclaré aucun contact direct avec des animaux, suggérant que ces individus auraient été colonisés de manière sporadique par ce ST à travers une consommation ponctuelle d'eau ou de nourriture contaminée par des matières fécales bovines. Le dernier participant a déclaré, quant à lui, avoir eu des contacts avec des poules et, plus intéressant encore, avec des moutons, ce qui pourrait être à l'origine de cette contamination par le ST14.

Pour ce qui a été d'explorer la prévalence et la distribution de *Cryptosporidium* dans la population guinéenne, une étude épidémiologique à grande échelle a été menée incluant plus de 800 patients suivis dans deux hôpitaux de Conakry à des saisons différentes (Article 4). Un seul patient avec une infection par *Cryptosporidium* spp. a été identifié dans un échantillon de selles prélevé pendant la saison sèche, soit une prévalence globale de 0,12 % et de 0,2 % en ne prenant en compte que les adultes. Bien que la saisonnalité soit considérée comme un facteur déterminant de la cryptosporidiose dans les pays tropicaux, avec une prévalence croissante de *Cryptosporidium* spp. pendant la saison des pluies (Squire et al., 2017), aucun cas d'infection n'a été rapporté pendant cette période dans notre étude. À notre

connaissance, il s'agit donc de la première étude fournissant une estimation récente de la présence de *Cryptosporidium* spp dans la population générale de ce pays.

Des enquêtes menées parmi la population générale en Afrique subsaharienne, révèlent des prévalences de *Cryptosporidium* spp. allant de moins de 1% à 32,4 %. La faible fréquence observée dans notre étude est donc cohérente avec la prévalence ≤ 1 % déjà rapportée après utilisation de méthodes de diagnostic moléculaire dans certains pays africains, notamment à Madagascar, en Éthiopie, au Kenya, en Tanzanie et en Côte d'Ivoire (voir Table 2 article 4). L'espèce de *Cryptosporidium* identifiée dans le seul échantillon positif était l'espèce anthroponotique *C. hominis*. La séquence du gène de l'ADNR 18S de l'isolat correspondant présentait 100% d'homologie avec une séquence de *C. hominis* précédemment rapportée en Ouganda et anciennement identifiée comme *C. parvum* génotype 1 (AF481962). Cette séquence a été identifiée chez des enfants hospitalisés (0-5 ans) souffrant de diarrhée, et une association significative entre l'infection à *Cryptosporidium* et la malnutrition, y compris le retard de croissance, l'insuffisance pondérale et le dépérissement, avait été observée (Tunwine et al., 2003). Plusieurs auteurs s'accordent d'ailleurs à dire que les transmissions anthroponotiques et zoonotiques sont responsables de l'infection à *Cryptosporidium* en Afrique, avec une prédominance de *C. hominis* et d'un sous-type anthroponotique de *C. parvum* (Khalil et al., 2018; Robertson et al., 2020).

Il est de plus intéressant de mentionner que des hypothèses ont été proposées pour expliquer la faible prévalence de *Cryptosporidium* spp. dans certaines régions d'Afrique : 1) une fréquence plus faible de *Cryptosporidium* spp. a été observée dans les zones urbaines africaines par rapport aux zones rurales (Ngobeni et al., 2022). C'est le cas de notre étude puisque 76% des individus de la cohorte testée étaient originaires de Conakry. Cette différence est probablement due au fait que les populations urbaines ont un meilleur accès à des sources d'eau potable et à des infrastructures sanitaires. De plus, en milieu urbain, il y a moins de sources potentielles de transmission zoonotique de *Cryptosporidium* spp. telles que le bétail ou la faune sauvage. Par ailleurs, les populations rurales ont tendance à être plus pauvres que leurs homologues urbaines, ce qui affecte leur niveau d'hygiène ; 2) l'absence de *C. parvum* observée chez le bétail dans certaines régions d'Afrique pourrait réduire la cryptosporidiose zoonotique transmise aux humains (Maikai et al., 2011); 3) l'exposition précoce à *Cryptosporidium* spp. pourrait limiter les infections futures et 4) les variations génétiques dans la population peuvent contribuer à rendre les individus plus ou moins sensibles à des

infections spécifiques (Robertson et al., 2020). Par exemple, une variante génétique au sein de la protéine kinase C alpha (PRKCA) a été identifiée et associée à un risque accru de cryptosporidiose au cours de la première année de vie. Il est intéressant de noter que les fréquences les plus élevées de cette variante génétique ont été observées dans les populations d'Asie de l'Est où la prévalence de la cryptosporidiose est élevée. En revanche, cet allèle était moins courant en Afrique de l'Ouest (Wojcik et al., 2020).

Les deux enquêtes menées afin de déterminer l'épidémiologie moléculaire de *Blastocystis* sp. et de *Cryptosporidium* spp. rapportent des différences importantes de prévalence entre ces deux protozoaires. Des hypothèses peuvent être avancées pour expliquer de telles différences :

1) *Blastocystis* sp. se transmet principalement par voie féco-orale, le plus souvent à travers la consommation d'eau contaminée par des kystes. Ces kystes sont particulièrement résistants dans l'environnement, pouvant survivre dans des conditions variées sans nécessiter de conditions strictes pour infecter un nouvel hôte. Cette capacité de survie augmente le risque d'infection par ce protozoaire, surtout dans les environnements où l'hygiène et l'assainissement sont limités (Tan et al., 2008). Les oocystes de *Cryptosporidium* spp. sont aussi très résistants, notamment aux désinfectants comme le chlore. Cependant, *Cryptosporidium* spp. est plus souvent associé à la contamination de l'eau potable ou à des épidémies localisées (Bourli et al., 2023). Les infections surviennent souvent en foyers ou dans des conditions spécifiques de contamination (par exemple, lors d'inondations ou de pannes d'infrastructures d'eau potable), ce qui limite sa prévalence à travers une distribution plus ponctuelle (Lal et al., 2019).

2) *Blastocystis* sp. infecte un large éventail d'hôtes, allant des humains aux animaux domestiques et sauvages. La diversité des STs permet de multiples cycles de transmission, entre humains et animaux, augmentant ainsi les opportunités de transmission à l'Homme. La grande variété de réservoirs zoonotiques contribue donc à maintenir une prévalence élevée de *Blastocystis* sp. dans de nombreuses régions, rurales comme urbaines (Hublin et al., 2021). Par contre, *Cryptosporidium* spp. bien que zoonotique pour certaines espèces comme *C. parvum*, a un nombre d'hôtes plus restreint pour les espèces qui infectent les humains. Cela limite sa prévalence générale, car sa transmission dépend souvent de l'exposition à des animaux spécifiques ou à de l'eau contaminée (Bellinzona et al., 2024).

3) De nombreuses infections par *Blastocystis* sp. sont asymptomatiques (Tan et al., 2008), ce qui signifie que les individus infectés ne ressentent souvent pas le besoin de consulter un professionnel de santé ou de prendre des mesures pour éliminer le parasite. L'absence de symptômes favorise une prévalence élevée, car les personnes infectées continuent de jouer un rôle dans la chaîne de transmission sans être détectées (Stensvold et Clark, 2016). Les infections par *Cryptosporidium* spp., tendent, en revanche, à être symptomatiques (Certad et al., 2017). Les symptômes (diarrhées sévères, déshydratation) incitent davantage les patients à consulter un médecin, menant à un diagnostic et à une prise en charge plus systématique qui interrompt le cycle de transmission.

4) Les infections par *Cryptosporidium* spp. sont plus fréquentes chez les enfants, les personnes âgées et les individus immunodéprimés (Certad et al., 2017). Cependant, dans le cadre de ce projet, les analyses ont été réalisées dans une cohorte représentative de la population générale tous âges confondus.

5) Les infections par *Blastocystis* sp. sont largement répandues dans les pays en développement où les conditions d'hygiène sont précaires (El Safadi et al. 2014), mais elles existent également dans les pays industrialisés, avec des prévalences élevées dans les populations exposées aux animaux et aux environnements ruraux (El Safadi et al. 2016). *Cryptosporidium* spp. est également fréquent dans les pays en développement, mais les épidémies dans les pays industrialisés sont souvent contrôlées par des systèmes de traitement de l'eau. Cela contribue à limiter la prévalence générale de *Cryptosporidium* spp. dans ces régions, même si des épidémies surviennent occasionnellement (Bourli et al., 2023).

6) Comme cela sera discuté ci-dessous, nos travaux confirment que les STs anthroponotiques de *Blastocystis* sp. sont considérés comme les membres d'un microbiote intestinal sain ce qui expliquerait naturellement sa présence plus fréquente dans les selles.

Le dernier axe de recherche de ma thèse s'est focalisé sur l'impact de la colonisation par *Blastocystis* sp. sur le microbiote intestinal d'individus guinéens (Article 5). Cette étude étant en cours de finalisation et n'ayant eu qu'une implication réduite, je ne vais pas trop m'étendre sur ses travaux et n'en résumer que les points saillants. Elle est cependant d'intérêt majeur car c'est la première enquête menée sur ce thème en Guinée alors que l'on sait que les diverses communautés de bactéries intestinales jouent un rôle fondamental dans la détermination de la santé humaine. Il est ainsi généralement admis qu'une grande diversité

microbienne intestinale est un signe distinctif d'un microbiote intestinal sain et résilient (Reynolds et al., 2015). Parmi les caractéristiques globales de la colonisation par des STs anthroponotiques de *Blastocystis* sp ; et ce quelque soit l'origine géographique des individus, on observe une abondance plus élevée de certains taxons au sein des Firmicutes, en particulier ceux de la classe des Clostridia, tels que les familles Ruminococcaceae et Prevotellaceae, et une diminution générale de l'abondance de *Bacteroides* (Audebert et al., 2016 ; Beghini et al., 2017 ; Kodio et al., 2019 ; Tito et al., 2019). De plus, les porteurs de *Blastocystis* sp. montrent une diminution significative des Enterobacteriaceae et des Proteobacteria qui peuvent être considérées comme « pathogènes » puisqu'en lien avec une inflammation intestinale comparativement aux sujets exempts de *Blastocystis* sp. En outre, des membres des genres *Faecalibacterium* et *Roseburia* sont également enrichis chez les individus colonisés par *Blastocystis* sp. (Audebert et al., 2016 ; Kodio et al., 2019) augmentant ainsi la production de butyrate. Or, le butyrate a des effets bénéfiques bien établis sur la santé intestinale, servant de source d'énergie importante pour les cellules épithéliales du côlon et agissant comme inhibiteur de l'inflammation intestinale (Geirnaert et al., 2017). Toutes les données publiées suggèrent donc que la colonisation par *Blastocystis* sp. réduit sélectivement l'abondance de bactéries pathogènes et induit des modifications de la composition du microbiote qui pourraient être bénéfiques pour le maintien de l'homéostasie intestinale.

La question était donc de savoir si nos analyses du microbiote intestinal d'individus guinéens presque exclusivement colonisés par des STs anthroponotiques de *Blastocystis* sp. corroboraient toutes ces observations. Nos premiers résultats confirment bien l'association entre une colonisation par *Blastocystis* sp. et une plus grande diversité bactérienne du microbiote intestinal. Si on rentre plus en détails sur la composition du microbiote intestinal bactérien d'individus guinéens colonisés que l'on compare à celle d'individus non colonisés, la proportion de Firmicutes est plus importante alors que c'est l'inverse pour les Bacteroidota et les Proteobacteria comme décrit ci-dessus dans différentes études. Les genres *Escherichia* et *Shigella* sont enrichis chez les sujets non colonisés alors que les genres *Ruminococcus*, *Coprococcus* et *Butyrivibrio*, connues pour produire du butyrate, sont plus prévalents chez les sujets colonisés. En parallèle, des variations de prévalence étaient observées entre individus colonisés selon le ST présent comme par exemple, une prévalence plus importante de *Faecalibacterium* associée au ST3 par rapport aux ST1 et ST2. Il est donc évident que la colonisation par des STs anthroponotiques de *Blastocystis* sp. a un effet bénéfique sur le

microbiote intestinal dans la population guinéenne comme c'est le cas dans d'autres pays du monde. Nous avons aussi eu l'occasion de se pencher sur l'effet de la colonisation par des STs animaux zoonotiques. Il a été démontré que le ST7 aviaire induisait une réduction de la prévalence de bactéries bénéfiques (Yason et al., 2019) et de ce fait, il était intéressant d'analyser l'impact d'un autre ST zoonotique comme le ST14 adapté aux bovins. Même si le nombre d'individus guinéens analysés et colonisés par le ST14 était très limité, une plus faible diversité du microbiote intestinal a été observée pour les individus colonisés par ce ST par rapport à ceux colonisés par les STs anthroponotiques sans pour cela avoir l'effet délétère du ST7. Des études complémentaires doivent être réalisées ultérieurement pour ce ST comme pour d'autres STs zoonotiques comme le ST6 ou le ST10. En parallèle, nous avons aussi initié une étude de l'eucaryome intestinal de ces mêmes individus guinéens et montré que ceux colonisés par *Blastocystis* sp. présentaient une prévalence moindre des champignons du groupe des Ascomycota et plus d'*Aspergillus* et de *Candida* au sein de leur microbiote intestinal que ceux non colonisés par ce protozoaire. Cependant, cette approche doit être optimisée car les amorces utilisées ne permettent pas d'identifier pour l'instant les autres protozoaires intestinaux qui peuvent aussi avoir un impact majeur. Il a par exemple été montré que chez un même individu colonisé à la fois par *Blastocystis* sp. et *Entamoeba histolytica*, on observait une influence cumulative de ces deux protozoaires sur la diversité du microbiome bactérien (Even et al., 2021).

Conclusion

Les parasitoses intestinales demeurent une préoccupation majeure de santé publique en Guinée comme dans tous les pays en développement et ce d'autant plus avec les effets dévastateurs du réchauffement climatique en particulier en termes d'augmentation des précipitations. Les analyses et enquêtes épidémiologiques réalisées dans le cadre de ma thèse enrichissent de manière significative notre compréhension de l'épidémiologie et de la transmission des infections parasitaires dans ce pays et plus particulièrement celle des 2 protozoaires intestinaux *Blastocystis* sp. et *Cryptosporidium* spp. Nos travaux amènent ainsi les toutes premières données se rapportant à la prévalence de ces deux protozoaires dans la population générale en Guinée.

La prévalence de *Blastocystis* sp. est impressionnante en Guinée en lien avec une large transmission inter-humaine principalement indirecte et une transmission zoonotique non négligeable. Cette prévalence reflète aussi une qualité médiocre des sources d'eau de consommation facilitant ainsi sa circulation dans la population. Le portage asymptomatique de *Blastocystis* sp. est fréquent même si son impact en tant qu'agent responsable de troubles digestifs reste très difficile à estimer du fait des co-infections probables avec d'autres parasites intestinaux. De plus, nos travaux apportent une nouvelle preuve de l'impact bénéfique de la colonisation par des STs anthroponotiques de *Blastocystis* sp. sur notre microbiote intestinal, cette colonisation étant associée à des effets positifs sur la diversité et la composition bactérienne de cet écosystème. Cette colonisation aurait d'autres avantages puisque des études récentes suggèrent que *Blastocystis* sp. serait capable de modifier la concentration de tryptophane, une molécule de l'axe microbiote-intestin-cerveau, dans l'intestin à un niveau suffisant pour provoquer des effets physiologiques et impacter notre corps (Leonardi et Tan, 2024). De même, une analyse à l'échelle mondiale sur 56 989 métagénomés a démontré que la présence de *Blastocystis* sp. était positivement associée à des profils cardiométaboliques plus favorables et négativement à l'obésité et aux troubles liés à une écologie intestinale altérée (Piperni et al., 2024).

Pour ce qui est de *Cryptosporidium* spp., et bien que sa prévalence relevée dans notre étude soit faible, sa présence reste toujours une préoccupation majeure en raison de son potentiel à provoquer des diarrhées sévères voire fatales chez certains patients. De plus, près de la moitié des épidémies d'origine hydrique dues à des protozoaires documentées dans le

monde étaient des épidémies de cryptosporidiose d'origine anthroponotique ou zoonotique. La Guinée, en particulier dans les zones rurales n'est pas à l'abri de larges épidémies qui sont fréquentes en Afrique même si souvent non rapportées dans la littérature (Robertson et al., 2020).

Des études longitudinales supplémentaires restent essentielles pour approfondir notre connaissance de l'épidémiologie moléculaire et de la physiopathologie de ces parasites, ainsi que pour comprendre les rôles des facteurs de l'hôte, et/ou environnementaux dans la susceptibilité à l'infection, la réponse immunitaire et les manifestations cliniques. Ces études aideront à clarifier la dynamique de l'infection, à améliorer les stratégies de diagnostic et de traitement, et à orienter les interventions de santé publique pour mieux gérer et prévenir l'impact de ces parasitoses.

Toutes les données collectées durant ma thèse concernant les parasitoses intestinales pourront être remontées aux autorités sanitaires locales par mon intermédiaire en tant que personnel du ministère de la Santé, afin de sensibiliser à cette problématique et aider à instaurer des mesures de contrôle et de prévention. L'amélioration des infrastructures sanitaires en prenant en compte un accès à l'eau potable, le nettoyage urbain, la gestion des déchets solides, ainsi que l'amélioration du drainage et la gestion des eaux pluviales urbaines, l'analyse de la qualité de l'eau et la sensibilisation des villageois aux modes de transmission des parasites doivent être recommandés et mis en place. Cela pourrait également inclure des programmes de dépistage des protozoaires intestinaux couplés au développement de méthodes de détection moléculaire de ces parasites dans les principaux hôpitaux.

Références bibliographiques

- Adl SM, Bass D, Lane CE, Lukeš J, Schoch CL, Smirnov A, Agatha S, Berney C, Brown MW, Burki F, et al. Revisions to the Classification, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes. *J Eukaryot Microbiol* 2019, 66, 4-119
- Adoubryn KD, Kouadio-Yapo CG, Ouhon J, Aka NA, Bintto F, Assoumou A. [Intestinal parasites in children in Biankouma, Ivory Coast (mountaineous western region): efficacy and safety of praziquantel and albendazole]. *Med Sante Trop* 2012, 22, 170-176
- Aldeyarbi HM, Abu El-Ezz NM, Karanis P. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis: the African perspective. *Environ Sci Pollut Res Int* 2016, 23, 13811-13821
- Ajjampur S.S., Tan K.S.W. Pathogenic mechanisms in *Blastocystis* spp.—Interpreting results from *in vitro* and *in vivo* studies. *Parasitol Int* 2016, 65, 772–779
- Ajjampur S.S.R., Png C.W., Chia W. N., Zhang Y, Tan, K.S. W.. *Ex Vivo* and *In Vivo* mice models to study *Blastocystis* spp. adhesion, colonization and pathology: closer to proving Koch's postulates. *PLoS ONE* 2016, 11, e0160458
- Alfellani M.A., Stensvold C.R., Vidal-Lapiedra A., Onuoha E.S.U., Fagbenro-Beyioku A.F., Clark C.G. Variable geographic distribution of *Blastocystis* subtypes and its potential implications. *Acta Trop* 2013, 126, 11–18
- Al Jewari C, Baldauf SL. An excavate root for the eukaryote tree of life. *Sci Adv* 2023 9, eade4973
- Alzate J.F., Toro-Londono M., Cabarcas F., Garcia-Montoya G., Galvan-Diaz A. Contrasting microbiota profiles observed in children carrying either *Blastocystis* spp. or the commensal amoebas *Entamoeba coli* or *Endolimax nana*. *Sci Rep* 2020, 10, 15354
- Andersen L.O., Stensvold C.R. *Blastocystis* in health and disease: Are we moving from a clinical to a public health perspective? *J Clin Microbiol* 2016, 54, 524–528
- Andersen L.O., Bonde I., Nielsen H.B., Stensvold C.R. A retrospective metagenomics approach to studying *Blastocystis*. *FEMS Microbiol Ecol* 2015, 91, fiv072
- Angelici MC, Nardis C, Scarpelli R. *Blastocystis hominis* transmission by non-potable water: a case report in Italy. *New Microbiol* 2018, 41, 173-177
- Argüello-García R, Carrero JC, Ortega-Pierres MG. Extracellular Cysteine Proteases of Key Intestinal Protozoan Pathogens-Factors Linked to Virulence and Pathogenicity. *Int J Mol Sci* 2023, 24, 12850
- Asghari A, Sadrebazzaz A, Shamsi L, Shams M. Global prevalence, subtypes distribution, zoonotic potential, and associated risk factors of *Blastocystis* sp. in domestic pigs (*Sus domesticus*) and wild boars (*Sus scrofa*): A systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog* 2021, 160, 105183
- Attah AO, Sanggari A, Li LI, Nik Him NAI, Ismail AH, Meor Termizi FH. *Blastocystis* occurrence in water sources worldwide from 2005 to 2022: a review. *Parasitol Res* 2023, 122, 1-10
- Audebert, C.; Even, G.; Cian, A.; The *Blastocystis* Investigation Group; Loywick, A.; Merlin, S.; Viscogliosi, E.; Chabe, M. Colonization with the enteric protozoa *Blastocystis* is associated with increased diversity of human gut bacterial microbiota. *Sci Rep* 2016, 6, 25255

- Aula OP, McManus DP, Jones MK, Gordon CA. Schistosomiasis with a Focus on Africa. *Trop Med Infect Dis* 2021, 6, 109
- Aykur M, Malatyalı E, Demirel F, Cömert-Koçak B, Gentekaki E, Tsaousis AD, Dogruman-Al F. *Blastocystis*: A Mysterious Member of the Gut Microbiome. *Microorganisms* 2024, 12, 461
- Baek S., Maloney J.G., Molokin A., George N.S., Vecino J.A.C., Santin M. Diversity of *Blastocystis* subtypes in horses in Colombia and identification of two new subtypes. *Microorganisms* 2022, 10, 1693
- Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. *Water Res* 2011, 45, 6603-6614
- Barati M, KarimiPourSaryazdi A, Rahmanian V, Bahadory S, Abdoli A, Rezanezhad H, Solhjo K, Taghipour A. Global prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. in rodents, birds, and water supplies: A systematic review and meta-analysis. *Prev Vet Med* 2022, 208, 105770
- Bart A., Wentink-Bonnema E.M., Gilis H., Verhaar N., Wassenaar C.J., Vugt M. van Vugt M., Goorhuis A., Van Gool T. Diagnosis and subtype analysis of *Blastocystis* sp. in 442 patients in a hospital setting in the Netherlands. *BMC Infect Dis* 2013, 13, 389
- Basyoni M.M.A., Fouad S.A., Amer M.F., Amer A.F., Ismail D.I. Atorvastatin: *In-Vivo* Synergy with Metronidazole as Anti-*Blastocystis* Therapy. *Korean J Parasitol* 2013, 56, 105
- Batista, L., Pérez Jove, J., Rosinach, M., Gonzalo, V., Sainz, E., Loras, C., Forné, M., Esteve, M., Fernández-Bañares, F. Low efficacy of metronidazole in the eradication of *Blastocystis hominis* in symptomatic patients: Case series and systematic literature review. *Gastroenterología y Hepatología (English Edition)*, 2017, 40, 381–387
- Beghini, F., Pasolli, E., Truong, T. D., Putignani, L., Cacciò, S. M., Segata, N. Large-scale comparative metagenomics of *Blastocystis*, a common member of the human gut microbiome. *Microbial Ecol* 2017, 11, 2848–2863
- Bellinzona G, Nardi T, Castelli M, Batisti Biffignandi G, Adjou K, Betson M, Blanchard Y, Bujila I, Chalmers R, Davidson R, et al. Comparative genomics of *Cryptosporidium parvum* reveals the emergence of an outbreak-associated population in Europe and its spread to the United States. *Genome Res* 2024, 34, 877-887
- Billy, V.; Lhotska, Z.; Jirku, M.; Kadlecova, O.; Frgelecova, L.; Parfrey, L.W.; Pomajbikova, K.J. *Blastocystis* Colonization Alters the Gut Microbiome and, in Some Cases, Promotes Faster Recovery from Induced Colitis. *Front Microbiol* 2021, 12, 641483
- Böhm-Gloning B, Knobloch J, Walderich B. Five subgroups of *Blastocystis* from symptomatic and asymptomatic patients revealed by restriction site analysis of PCR-amplified 16S-like rDNA. *Trop Med Int Health* 1997, 2, 771–778
- Boorom, K. F., Smith, H., Nimri, L., Viscogliosi, E., Spanakos, G., Parkar, U., Li, L.-H., Zhou, X.-N., Ok, Ü. Z., Leelayoova, S. and Jones, M. S. Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, *Blastocystis*, and asymptomatic infection. *Parasites Vectors* 2008, 1, 40
- Bourli P, Eslahi AV, Tzoraki O, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: a review of worldwide outbreaks - an update 2017-2022. *J Water Health* 2023, 21, 1421-1447

- Boutahar M, Belaouni M, Ibrahimi A, Eljaoudi R, Aanniz T, Er-Rami M, Köster PC, Dashti A, Carmena D. Unveiling *Blastocystis* epidemiology in Morocco: subtype diversity among clinical patients with and without gastrointestinal manifestations in the Meknes region. *Parasitol Res* 2024, 123, 273
- Bouزيد M, Hunter PR, Chalmers RM, Tyler KM. *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. *Clin Microbiol Rev* 2013, 26, 115-134
- Cacciò SM, Chalmers RM. Human cryptosporidiosis in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2016, 22, 471-480
- Cama VA, Ross JM, Crawford S, Kawai V, Chavez-Valdez R, Vargas D, Vivar A, Ticona E, Navincopa M, Williamson J, et al. Differences in clinical manifestations among *Cryptosporidium* species and subtypes in HIV-infected persons. *J Infect Dis* 2007, 196, 684-691
- Cama VA, Bern C, Roberts J, Cabrera L, Sterling CR, Ortega Y, Gilman RH, Xiao L. *Cryptosporidium* species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. *Emerg Infect Dis* 2008, 14, 1567-1574
- Caradonna T, Marangi M, Del Chierico F, Ferrari N, Reddel S, Bracaglia G, Normanno G, Putignani L, Giangaspero A. Detection and prevalence of protozoan parasites in ready-to-eat packaged salads on sale in Italy. *Food Microbiol* 2017, 67, 67-75
- Cavalier-Smith T. Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarine higher classification, and the evolutionary diversification of Sporozoa. *Eur J Protistol* 2014, 50, 472-495
- Certad G, Viscogliosi E, Chabé M, Cacciò SM. Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends Parasitol* 2017, 33, 561-576
- Chalmers RM, Davies AP, Tyler K. *Cryptosporidium*. *Microbiology* 2019, 165, 500-502
- Chappell CL, Okhuysen PC, Langer-Curry RC, Akiyoshi DE, Widmer G, Tzipori S. *Cryptosporidium meleagridis*: infectivity in healthy adult volunteers. *Am J Trop Med Hyg* 2011, 85, 238-242
- Cian, A., El Safadi, D., Osman, M., Moriniere, R., Gantois, N., Benamrouz-Vanneste, S., Delgado-Viscogliosi, P., Guyot, K., Li, L.-L., Monchy, S., Noël, C., et al. 2017. Molecular epidemiology of *Blastocystis* sp. in various animal groups from two French zoos and evaluation of potential zoonotic risk. *PLoS ONE* 12, e0169659
- Clark, C.G., Van der Giezen, M., Alfellani, M.A., Stensvold, C.R. Recent developments in *Blastocystis* research. *Adv Parasitol* 2013, 82, 1–32
- Centre National de Référence, CNR, Laboratoire Expert Cryptosporidioses, rapport 2018 <https://cnrcryptosporidioses.chu-rouen.fr/wp-content/uploads/sites/54/2019/10/rapport-2018-CNR-LE-Cryptosporidioses-def.pdf>
- Cinek O., Polackova K., Odeh R., Alassaf A., Kramna L., Ibekwe M.U., Majaliwa E.S., Ahmadov G., Elmahi B.M.E., Mekki H., et al. *Blastocystis* in the faeces of children from six distant countries: Prevalence, quantity, subtypes and the relation to the gut bacteriome. *Parasites Vectors* 2021, 14, 399

- Costa D, Razakandrainibe R, Valot S, Vannier M, Sautour M, Basmaciyan L, Gargala G, Viller V, Lemeteil D, Ballet JJ; French National Network on Surveillance of Human Cryptosporidiosis; Dalle F, Favennec L. Epidemiology of Cryptosporidiosis in France from 2017 to 2019. *Microorganisms* 2020, 8, 1358
- Coyle, C. M., Varughese, J., Weiss, L. M. and Tanowitz, H. B. 2012. *Blastocystis*: To Treat or Not to Treat.... *Clin Infect Dis* 2012, 54, 105–110
- D'Alfonso R., Santoro M., Essi D., Monsia A., Kaboré Y., Glé C., Di Cave D., Sorge R.P., Di Cristanzano V., Berrilli F. *Blastocystis* in Côte d'Ivoire: Molecular identification and epidemiological data. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017, 36, 2243–2250
- Defaye M, Nourrisson C, Baudu E, Lashermes A, Meynier M, Meleine M, Wawrzyniak I, Bonnin V, Barbier J, Chassaing B, et al. Fecal dysbiosis associated with colonic hypersensitivity and behavioral alterations in chronically *Blastocystis*-infected rats. *Sci Rep* 2020, 10, 9146
- Delahoy MJ, Omere R, Ayers TL, Schilling KA, Blackstock AJ, Ochieng JB, Moke F, Jaron P, Awuor A, Okonji C, et al. Clinical, environmental, and behavioral characteristics associated with *Cryptosporidium* infection among children with moderate-to-severe diarrhea in rural western Kenya, 2008-2012: The Global Enteric Multicenter Study (GEMS). *PLoS Negl Trop Dis* 2018, 12, e0006640
- Deng L., Wojciech L., Gascoigne N.R.J., Peng G., Tan K.S.W. New insights into the interactions between *Blastocystis*, the gut microbiota, and host immunity. *PLoS Pathog* 2021, 17, e1009253
- Deng, L.; Wojciech, L.; Png, C.W.; Koh, E.Y.; Aung, T.T.; Kioh, D.Y.Q.; Chan, E.C.Y.; Malleret, B.; Zhang, Y.; Peng, G.; et al. Experimental colonization with *Blastocystis* ST4 is associated with protective immune responses and modulation of gut microbiome in a DSS-induced colitis mouse model. *Cell Mol Life Sci* 2022a, 79, 245
- Deng, L.; Tan, K.S.W. Interactions between *Blastocystis* subtype ST4 and gut microbiota *in vitro*. *Parasites Vectors* 2022b, 15, 80
- Deng, L.; Wojciech, L.; Png, C.W.; Kioh, Y.Q.D.; Ng, G.C.; Chan, E.C.Y.; Zhang, Y.; Gascoigne, N.R.J.; Tan, K.S.W. Colonization with ubiquitous protist *Blastocystis* ST1 ameliorates DSS-induced colitis and promotes beneficial microbiota and immune outcomes. *NPJ Biofilms Microbiomes* 2023, 9, 22
- Denoëud, F., Roussel, M., Noël, B., Wawrzyniak, I., Da Silva, C., Diogon, M., Viscogliosi, E., Brochier-Armanet, C., Couloux, A., Poulain, J., et al. Genome sequence of the stramenopile *Blastocystis*, a human anaerobic parasite. *Genome Biol* 2011, 12, 3, R29
- Di Cristanziano V., Farowski F., Berrilli F., Santoro M., Di Cave D., Glé C., Daeumer M., Thielen A., Wirtz M., Kaiser R., et al. Analysis of human gut microbiota composition associated to the presence of commensal and pathogen microorganisms in Côte d'Ivoire. *Microorganisms* 2021, 9, 1763
- Dinleyici, E. C., Eren, M., Dogan, N., Reyhanioglu, S., Yargic, Z. A. and Vandenplas, Y. 2011. Clinical efficacy of *Saccharomyces boulardii* or metronidazole in symptomatic children with *Blastocystis hominis* infection. *Parasitol Res* 2011, 108, 541–545

Direction Nationale des Grandes Endémies et de la et Lutte contre la Maladie, République de Guinée. Plan directeur de la lutte contre les maladies tropicales négligées en Guinée (2019-2023) Disponible sur:

[https://www.google.com/search?q=PLAN+DIRECTEUR+DE+LA+LUTTE+CONTRE+LES+MALADIES+TROPICALES+NEGLIGEES+EN+GUINEE+\(2019-2023\)&oq=PLAN+DIRECTEUR+DE+LA+LUTTE+CONTRE+LES+MALADIES+TROPICALES+NEGLIGEES+EN+GUINEE+\(2019-2023\)&aqs=chrome.0.69i59.880j0j9&sourceid=chrome&ie=UTF-8](https://www.google.com/search?q=PLAN+DIRECTEUR+DE+LA+LUTTE+CONTRE+LES+MALADIES+TROPICALES+NEGLIGEES+EN+GUINEE+(2019-2023)&oq=PLAN+DIRECTEUR+DE+LA+LUTTE+CONTRE+LES+MALADIES+TROPICALES+NEGLIGEES+EN+GUINEE+(2019-2023)&aqs=chrome.0.69i59.880j0j9&sourceid=chrome&ie=UTF-8)

Dubik, M.; Pilecki, B.; Moeller, J.B. Commensal Intestinal Protozoa—Underestimated Members of the Gut Microbial Community. *Biology* 2022, 11, 1742

Efstratiou A, Ongerth JE, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2011-2016. *Water Res* 2017 114, 14-22

El Safadi, D., Gaayeb, L., Meloni, D., Cian, A., Poirier, P., Wawrzyniak, I., Delbac, F., Dabboussi, F., Delhaes, L., Seck, M., et al. Children of Senegal River Basin show the highest prevalence of *Blastocystis* sp. ever observed worldwide. *BMC Infect Dis* 2014, 14, 164

El Safadi, D., Cian, A., Nourrisson, C., Pereira, B., Morelle, C., Bastien, P., Bellanger, A.-P., Botterel, F., Candolfi, E., Desoubeaux, G., et al. Prevalence, risk factors for infection and subtype distribution of the intestinal parasite *Blastocystis* sp. from a large-scale multi-center study in France. *BMC Infect Dis* 2016, 16, 451

English ED, Guérin A, Tandel J, Striepen B. Live imaging of the *Cryptosporidium parvum* life cycle reveals direct development of male and female gametes from type I meronts. *PLoS Biol* 2022, 20, e3001604

Erismann S, Diagbouga S, Odermatt P, Knoblauch AM, Gerold J, Shrestha A, Grissoum T, Kaboré A, Schindler C, Utzinger J, Cissé G. Prevalence of intestinal parasitic infections and associated risk factors among schoolchildren in the Plateau Central and Centre-Ouest regions of Burkina Faso. *Parasit Vectors* 2016, 9, 554

Eroglu, F., Koltas, I. SEvaluation of the transmission mode of *B. hominis* by using PCR method. *Parasitol Res* 2010, 107, 841–845

Even, G.; Lokmer, A.; Rodrigues, J.; Audebert, C.; Viscogliosi, E.; Segurel, L.; Chabe, M. Changes in the Human Gut Microbiota Associated with Colonization by *Blastocystis* sp. and *Entamoeba* spp. in Non-Industrialized Populations. *Front Cell Infect Microbiol* 2021, 11, 533528

Eyayu T, Kiros T, Workineh L, Sema M, Damtie S, Hailemichael W, Dejen E, Tiruneh T. Prevalence of intestinal parasitic infections and associated factors among patients attending at Sanja Primary Hospital, Northwest Ethiopia: An institutional-based cross-sectional study. *PLoS One* 2021, 16, e0247075.

Fayer R, Morgan U, Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol* 2000, 30, 1305-1322

Feranmi, F. *Blastocystis* subtype 4 linked to gut microbiota stability. *Lancet Microbe* 2022, 3, e564

- Forsell J., Granlund M., Samuelsson L., Koskiniemi S., Edebro H., Evengard B. High occurrence of *Blastocystis* sp. subtypes 1–3 and *Giardia intestinalis* assemblage B among patients in Zanzibar, Tanzania. *Parasit Vectors* 2016, 9, 370
- Fréalte E., El Safadi D., Cian A., Aubry E., Certad G., Osman M., Wacrenier A., Dutoit E., Creusy C., Dubos F., et al. Acute *Blastocystis*-associated appendicular peritonitis in a child, Casablanca, Morocco. *Emerg Infect Dis* 2015, 21, 91–94
- Fusaro C, Bernal JE, Baldiris-Ávila R, González-Cuello R, Cisneros-Lorduy J, Reales-Ruiz A, Castro-Orozco R, Sarria-Guzmán M. Molecular Prevalence and Subtypes Distribution of *Blastocystis* spp. in Humans of Latin America: A Systematic Review. *Trop Med Infect Dis* 2024 9, 38
- Gantois N., Lamot A., Seesao Y., Creusy C., Li L.L., Monchy S., Benamrouz-Vanneste S., Karpouzopoulos J., Bourgain J.L., Rault C., et al. First report on the prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. in edible marine fish and marine mammals: A large scale-study conducted in Atlantic Northeast and on the coasts of Northern France. *Microorganisms* 2020, 8, 460
- Geirnaert A, Calatayud M, Grootaert C, Laukens D, Devriese S, Smagghe G, De Vos M, Boon N, Van de Wiele T. Butyrate-producing bacteria supplemented in vitro to Crohn's disease patient microbiota increased butyrate production and enhanced intestinal epithelial barrier integrity. *Sci Rep* 2017, 7, 11450
- Gentekaki, E.; Curtis, B.A.; Stairs, C.W.; Klimes, V.; Elias, M.; Salas-Leiva, D.E.; Herman, E.K.; Eme, L.; Arias, M.C.; Henrissat, B.; et al. Extreme genome diversity in the hyper-prevalent parasitic eukaryote *Blastocystis*. *PLoS Biol* 2017, 15, e2003769
- Ghafari-Cherati M, Karampour A, Nazem-Sadati SS, Asghari A. Foodborne concerns of *Blastocystis* spp. in marine animals (fish, bivalves, and sponges): A systematic review and meta-analysis of global prevalence and subtypes distribution. *Food Waterborne Parasitol* 2024, 36, e00242
- Gil, G. S., Chaudhari, S., Shady, A., Caballes, A., Hong, J. *Blastocystis* sp. infection mimicking *Clostridium Difficile* Colitis G. Walder. *Case Reports Infect Dis* 2016, 7264387
- Greige S., El Safadi D., Bécu N., Gantois N., Pereira B., Chabé M., Benamrouz-Vanneste S., Certad G., El Hage R., Chemaly M., et al. Prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. isolates from poultry in Lebanon and evidence of zoonotic potential. *Parasit Vectors* 2018, 11, 389
- Greigert V., Abou-Bacar A., Brunet J., Nourrisson C., Pfaff A.W., Benarbia L., Pereira B., Randrianarivelojosa M., Razafindrakoto J.-L., Rakotomalala R.S., et al. Human intestinal parasites in Mahajanga, Madagascar: The kingdom of the protozoa. *PLoS ONE* 2018, 13, e0204576
- Guérin A, Striepen B. The Biology of the Intestinal Intracellular Parasite *Cryptosporidium*. *Cell Host Microbe* 2020, 28, 509-515
- Gunasekera S, Zahedi A, O'Dea M, King B, Monis P, Thierry B, Carr JM, Ryan U. Organoids and Bioengineered Intestinal Models: Potential Solutions to the *Cryptosporidium* Culturing Dilemma. *Microorganisms* 2020, 8, 715

Guyot k, Sarfati C, Derouin F. Actualités sur l'épidémiologie et le diagnostic de la cryptosporidiose. Feuillet de Biologie 2012, 53, 304

Gyorkos TW, Camara B, Kokoskin E, Carabin H, Prouty R. Survey of parasitic prevalence in school-aged children in Guinea (1995). Sante 1996, 6, 377-381

Hadziavdic K, Lekang K, Lanzen A, Jonassen I, Thompson EM, Troedsson C. Characterization of the 18S rRNA Gene for Designing Universal Eukaryote Specific Primers. PLOS ONE 2014, 9, e87624

Hajissa K, Islam MA, Sanyang AM, Mohamed Z. Prevalence of intestinal protozoan parasites among school children in africa: A systematic review and meta-analysis. PLoS Negl Trop Dis 2022, 16, e0009971

Han, T.-H., Park, S.-H., Chung, J.-Y., Jeong, H.-W., Jung, J., Lee, J.-I., Hwang, Y.-O., Kim, I.-Y., Lee, J.-H. and Jung, K. Detection of pathogenic viruses in the ambient air in Seoul, Korea. Food Environ Virol 2018, 10, 327–332

Hashan MR, Elhusseiny KM, Huu-Hoai L, Tieu TM, Low SK, Minh LHN, Nghia TLB, Loc LQ, Y MN, Eid PS, Abed M, Elkolaly SS, Tawfik GM, Huy NT. Effect of nitazoxanide on diarrhea: A systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials. Acta Trop 2020, 210, 105603.

Helmy YA, Hafez HM. Cryptosporidiosis: From Prevention to Treatment, a Narrative Review. Microorganisms 2022, 10, 2456

Higuera A., Herrera G., Jimenez P., García-Corredor D., Pulido-Medellín M., Bulla-Castañeda D.M., Pinilla J.C., Moreno-Pérez D.A., Maloney J.G., Santín M., et al. Identification of multiple *Blastocystis* subtypes in domestic animals from Colombia using amplicon-based next generation sequencing. Front Vet Sci 2021, 8, 732129

Hossain MJ, Saha D, Antonio M, Nasrin D, Blackwelder WC, Ikumapayi UN, et al. *Cryptosporidium* infection in rural Gambian children: Epidemiology and risk factors. PLoS Negl Trop Dis 2019, 13, e0007607

Hublin J.S.Y., Maloney J.G., Santin M. *Blastocystis* in domesticated and wild mammals and birds. Res Vet Sci 2021, 135, 260–282

Hussein, E. M., Hussein, A. M., Eida, M. M. and Atwa, M. M. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats. Parasitol Res 2008, 102, 853–860

Institut National de la Statistique–RGPH2014, République de Guinée. Enquête Démographique et de Santé Guinée 2018. Disponible: <https://www.unicef.org/guinea/media/2106/file/EDS%202018.pdf>

Institut National de la Statistique, République de Guinée. Enquête Harmonisée sur les Conditions de Vie des Ménages (2018/2019). Ministère du Plan et du Développement Économique, République de Guinée Disponible sur: https://www.statguinee.org/images/Documents/Publications/INS/rapports_enquetes/INS_Rapport_Final_EHCVM

- Jagai JS, Castronovo DA, Monchak J, Naumova EN. Seasonality of cryptosporidiosis: A meta-analysis approach. *Environ Res* 2009, 109, 465-478
- Janarthanan, S., Khoury, N. Antaki, F. An unusual case of invasive *Blastocystis hominis* infection. *Endoscopy* 2011, 43, E185–186
- Jiménez PA, Jaimes JE, Ramírez JD. A summary of *Blastocystis* subtypes in North and South America. *Parasit Vectors* 2019, 12, 376
- Jimenez P., Munoz M., Ramirez J.D. An update on the distribution of *Blastocystis* subtypes in the Americas. *Heliyon* 2023, 8, e12592
- Jinatham V., Maxamhud S., Popluechai S., Tsaousis A.D., Gentekaki E. *Blastocystis* One Health approach in a rural community of Northern Thailand: Prevalence, subtypes and novel transmission routes. *Front Microbiol* 2021, 12, 746340
- Jirsová D, Wideman JG. Integrated overview of stramenopile ecology, taxonomy, and heterotrophic origin *ISME J* 2024, 18, wrae150
- Khaled S., Gantois N., Tidjani Ly A., Senghor S., Even G., Dautel E., Dejager R., Sawant M., Baydoun M., Benamrouz-Vanneste S., et al. Prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. in Senegalese school children. *Microorganisms* 2020, 8, 1408
- Khaled S, Gantois N, Ayoubi A, Even G, Sawant M, El Houmayraa J, Nabot M, Benamrouz-Vanneste S, Chabé M, Certad G, et al. *Blastocystis* sp. Prevalence and Subtypes Distribution amongst Syrian Refugee Communities Living in North Lebanon. *Microorganisms* 2021, 9, 184
- Khalil IA, Troeger C, Rao PC, Blacker BF, Brown A, Brewer TG, Colombara DV, De Hostos EL, Engmann C, Guerrant RL, et al. Morbidity, mortality, and long-term consequences associated with diarrhoea from *Cryptosporidium* infection in children younger than 5 years: a meta-analyses study. *Lancet Glob Health* 2018, 6, e758-e768
- Khan SM, Witola WH. Past, current, and potential treatments for cryptosporidiosis in humans and farm animals: A comprehensive review. *Front Cell Infect Microbiol* 2023, 13, 1115522
- Khan A, Shaik JS, Grigg ME. Genomics and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* species. *Acta Trop* 2018, 184, 1-14
- King P, Tyler KM, Hunter PR. Anthroponotic transmission of *Cryptosporidium parvum* predominates in countries with poorer sanitation: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors* 2019, 12, 16
- Kodio, A.; Coulibaly, D.; Kone, A.K.; Konate, S.; Doumbo, S.; Guindo, A.; Bittar, F.; Gouriet, F.; Raoult, D.; Thera, M.A.; et al. *Blastocystis* Colonization Is Associated with Increased Diversity and Altered Gut Bacterial Communities in Healthy Malian Children. *Microorganisms* 2019, 7, 649
- Koelher A.V., Herath H.M.P.D., Hall R.S., Wilcox S. Marked genetic diversity within *Blastocystis* in Australian wildlife revealed using a next generation sequencing-phylogenetic approach. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl* 2024, 23, 100902
- Koltas, I.S., Akyar, I., Elgun, G., Kocagoz, T. Feconomics®; a new and more convenient method, the routine diagnosis of intestinal parasitic infections. *Parasitol Res* 2014, 113, 2503-2508

- Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, Nasrin D, Farag TH, Panchalingam S, et al. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet* 2013, 382, 209-222
- Kumarasamy V, Atroosh WM, Anbazhagan D, Abdalla MMI, Azzani M. Association of *Blastocystis hominis* with colorectal cancer: A systematic review of in vitro and in vivo evidences. *World J Gastrointest Oncol* 2022, 14, 734-745
- Kumarasamy V, Rajamanikam A, Anbazhagan D, Atroosh WM, Azzani M, Subramaniyan V, Abdullah SR. Systematic Review and Meta-Analysis: Epidemiology of Human *Blastocystis* spp. Infection in Malaysia. *Trop Med Infect Dis* 2023, 8, 415
- Lal A, Fearnley E, Wilford E. Local weather, flooding history and childhood diarrhoea caused by the parasite *Cryptosporidium* spp.: A systematic review and meta-analysis. *Sci Total Environ* 2019, 674, 300-306
- Lebba V., Santangelo F., Totino V., Pantanella F., Monsia A., Di Cristanziano V., Di Cave D., Schippa S., Berrilli F., D'Alfonso R. Gut microbiota related to *Giardia duodenalis*, *Entamoeba* spp. and *Blastocystis hominis* infections in humans from Côte d'Ivoire. *J Infect Dev Ctries* 2016, 10, 1035–1041
- Lee, L. I., Chye, T. T., Karmacharya, B. M., Govind, S. K. 2012b. *Blastocystis* sp.: waterborne zoonotic organism, a possibility? *Parasit Vectors* 2012b, 5, 130
- Lendner M, Dauschies A. *Cryptosporidium* infections: molecular advances. *Parasitology* 2014, 141, 1511-1532
- Leonardi SS, Tan KS. *Blastocystis*: view from atop the gut-brain iceberg. *Trends Parasitol* 2024, 40, 1-4
- Levine MM, Nasrin D, Acácio S, Bassat Q, Powell H, Tennant SM, Sow SO, Sur D, Zaidi AKM, Faruque ASG, et al. Diarrhoeal disease and subsequent risk of death in infants and children residing in low-income and middle-income countries: analysis of the GEMS case-control study and 12-month GEMS-1A follow-on study. *Lancet Glob Health* 2020, 8, e204-e214
- Lhotská Z, Jirků M, Hložková O, Brožová K, Jirsová D, Stensvold CR, Kolísko M, Jirků Pomajbíková K. A Study on the Prevalence and Subtype Diversity of the Intestinal Protist *Blastocystis* sp. in a Gut-Healthy Human Population in the Czech Republic. *Front Cell Infect Microbiol* 2020, 10, 544335
- Lilja M, Widerström M, Lindh J. Persisting post-infection symptoms 2 years after a large waterborne outbreak of *Cryptosporidium hominis* in northern Sweden. *BMC Res Notes* 2018, 11, 625
- Lokmer A., Cian A., Froment A., Gantois N., Viscogliosi E., Chabé M., Ségurel L. Use of shotgun metagenomics for the identification of protozoa in the gut microbiota of healthy individuals from worldwide populations with various industrialization levels. *PLoS ONE* 2019, 14, e0211139
- Ma L., Zhang Y., Qiao H., Li S., Wang H., Zhang N., Zhang X. Cockroach as a vector of *Blastocystis* sp. is risk for Golden Monkeys in zoo. *Korean J. Parasitol* 2020, 58, 583–587

- Ma JY, Li MY, Qi ZZ, Fu M, Sun TF, Elsheikha HM, Cong W. Waterborne protozoan outbreaks: An update on the global, regional, and national prevalence from 2017 to 2020 and sources of contamination. *Sci Total Environ* 2022, 806, 150562
- Maçin S, Kaya F, Çağdaş D, Hizarcioglu-Gulsen H, Saltik-Temizel IN, Tezcan İ, Demir H, Ergüven S, Akyön Y. Detection of parasites in children with chronic diarrhea. *Pediatr Int* 2016, 58, 531-533
- Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE, et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med* 1994, 331, 161-167
- Mahdavi F, Maleki F, Mohammadi MR, Mehboodi M, Hanifeh F, Asghari A, Mohammadi-Ghalehbin B. A Worldwide Systematic Review and Meta-Analysis of the Prevalence and Subtype Distribution of *Blastocystis* Sp. in Water Sources: A Public Health Concern. *Foodborne Pathog Dis* 2024 Oct 10
- Maikai B V., Umoh JU, Kwaga JKP, Lawal IA, Maikai VA, Cama V, Xiao L. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in native breeds of cattle in Kaduna State, Nigeria. *Vet Parasitol* 2011, 178, 241-245
- Maloney J.G., Molokin A., Segui R., Maravilla P., Martinez-Hernandez F., Villalobos G., Tsaousis A.D., Gentekaki E., Munoz-Antoli C., Klisiowicz D.R., et al. Identification and molecular characterization of four new *Blastocystis* subtypes designated ST35-ST38. *Microorganisms* 2023, 11, 46
- Martínez-Ocaña J, Maravilla P, Olivo-Díaz A. Interaction between human mucins and parasite glycoproteins: the role of lectins and glycosidases in colonization by intestinal protozoa. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2020, 62, e64
- Mead JR. Early immune and host cell responses to *Cryptosporidium* infection. *Front Parasitol* 2023, 2, 1113950
- Mejia R, Seco-Hidalgo V, Garcia-Ramon D, Calderón E, Lopez A, Cooper PJ. Detection of enteric parasite DNA in household and bed dust samples: potential for infection transmission. *Parasit Vectors* 2020, 13, 141
- Meloni, D., Poirier, P., Mantini, C., Noël, C., Gantois, N., Wawrzyniak, I., Delbac, F., Chabé, M., Delhaes, L., Dei-Cas, E., et al. Mixed human intra- and inter-subtype infections with the parasite *Blastocystis* sp. *Parasitol Int* 2012, 61, 719–722
- Mirza, H., Wu, Z., Kidwai, F. and Tan, K. S. W. 2011. A Metronidazole-resistant isolate of *Blastocystis* spp. is susceptible to nitric oxide and downregulates intestinal epithelial inducible nitric oxide synthase by a novel parasite survival mechanism. *Infect Immun* 2011, 79, 5019–5026
- Mirza, H., Wu, Z., Teo, J. D. W., Tan, K. S. W. Statin pleiotropy prevents rho kinase-mediated intestinal epithelial barrier compromise induced by *Blastocystis* cysteine proteases. *Cell Microbiol* 2012, 14, 1474–1484

Moe, K. T., Singh, M., Howe, J., Ho, L. C., Tan, S. W., Ng, G. C., Chen, X. Q., Yap, E. H. Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of *Blastocystis hominis* from human feces. *Parasitol Res* 1996, 82, 439–444

Mølbak K, Andersen M, Aaby P, Højlyng N, Jakobsen M, Sodemann M, da Silva AP. *Cryptosporidium* infection in infancy as a cause of malnutrition: a community study from Guinea-Bissau, west Africa. *Am J Clin Nutr* 1997, 65, 149-152

Molyneux DH, Savioli L, Engels D. Neglected tropical diseases: progress towards addressing the chronic pandemic. *Lancet* 2017, 389, 312-325

Muadica A.S., Köster P.C., Dashti A., Bailo B., Hernandez-de-Mingo M., Reh L., Balasegaram S., Verlander N.Q., Ruiz Chercoles E., Carmena D. Molecular diversity of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp. and *Blastocystis* sp. in asymptomatic school children in Leganés, Madrid (Spain) *Microorganisms* 2020, 8, 466

Nader JL, Mathers TC, Ward BJ, Pachebat JA, Swain MT, Robinson G, et al. Evolutionary genomics of anthroponosis in *Cryptosporidium*. *Nat Microbiol* 2019; 4, 826–836

Nagel, R., Cuttell, L., Stensvold, C. R., Mills, P. C., Bielefeldt-Ohmann, H., Traub, R. J. *Blastocystis* subtypes in symptomatic and asymptomatic family members and pets and response to therapy. *Int Med J* 2012, 42, 1187–1195

Naguib D., Gantois N., Desramaut J., Arafat N., Even G., Certad G., Chabé M., Viscogliosi E. Prevalence, subtype distribution and zoonotic significance of *Blastocystis* sp. isolates from poultry, cattle and pets in Northern Egypt. *Microorganisms* 2022, 10, 2259

Naguib D, Gantois N, Desramaut J, Arafat N, Mandour M, Abdelmaogood AKK, Mosa AF, Denoyelle C, Even G, Certad G, et al. Molecular Epidemiology and Genetic Diversity of the Enteric Protozoan Parasite *Blastocystis* sp. in the Northern Egypt Population. *Pathogens* 2023, 12, 1359

Naguib D, Gantois N, Desramaut J, Dominguez RG, Arafat N, Atwa SM, Even G, Devos DP, Certad G, Chabé M, Viscogliosi E. Large-Scale Molecular Epidemiological Survey of *Blastocystis* sp. among Herbivores in Egypt and Assessment of Potential Zoonotic Risk. *Microorganisms* 2024, 12, 1286

Navin TR, Weber R, Vugia DJ, Rimland D, Roberts JM, Addiss DG, Visvesvara GS, Wahlquist SP, Hogan SE, Gallagher LE, et al. Declining CD4+ T-lymphocyte counts are associated with increased risk of enteric parasitosis and chronic diarrhea: results of a 3-year longitudinal study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999, 20, 154-159

Nemati S., Reza Zali M., Johnson P., Mirjalali H., Karanis P. Molecular prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. in Asia and Australia. *J. Water Health* 2021, 19, 687

Ngobeni R, Gilchrist C, Samie A. Prevalence and distribution of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia lamblia* in rural and urban communities of South Africa. *Turkiye Parazitoloji Dergisi* 2022, 46, 14-19

Nguyen L.D.N., Gantois N., Hoang T.T., Do B.T., Desramaut J., Naguib D., Tran T.N., Truong A.D., Even G., Certad G., et al. First epidemiological survey on the prevalence and subtypes distribution of the enteric parasite *Blastocystis* sp. in Vietnam. *Microorganisms* 2023, 11, 731

- Ning C.-Q., Hu Z.-H., Chen J.-H., Tian L.-G. Epidemiology of *Blastocystis* infection from 1990 to 2019 in China. *Infect. Dis. Poverty* 2020, 9, 168
- Nithiuthai S, Anantaphruti MT, Waikagul J, Gajadhar A. Waterborne zoonotic helminthiases. *Vet Parasitol* 2004, 126, 167-193
- Noel C, Dufernez F, Gerbod D, Edgcomb VP, Delgado-Viscogliosi P, Ho LC, Singh M, Wintjens R, Sogin ML, Capron M, et al. Molecular phylogenies of *Blastocystis* isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *J Clin Microbiol* 2005, 43, 348-355
- Odeniran PO, Ademola IO. Epidemiology of *Cryptosporidium* infection in different hosts in Nigeria: A meta-analysis. *Parasitol Int* 2019, 71, 194-206
- Osman, M., El Safadi, D., Cian, A., Benamrouz, S., Nourrisson, C., Poirier, P., Pereira, B., Razakandrainibe, R., Pinon, A., Lambert, C., et al. Prevalence and risk factors for intestinal protozoan infections with *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Blastocystis* and *Dientamoeba* among schoolchildren in Tripoli, Lebanon. *PLoS Negl Trop Dis* 2016, 10, e0004496
- Osario-Pulgarin M.I., Higuera A., Beltran-Alzate J.C., Sanchez-Jimenez M., Ramirez J.D. Epidemiological and molecular characterization of *Blastocystis* infection in children attending daycare centers in Medellin, Colombia. *Biology* 2021, 10, 669
- Parkar, U., Traub, R.J., Kumar, S., Mungthin, M., Vitali, S., Leelayoova, S., Morris, K., Thompson, R.C.A. Direct characterization of *Blastocystis* from faeces by PCR and evidence of zoonotic potential. *Parasitology* 2007, 134, 359–367
- Parkar, U., Traub, R.J., Vitali, S., Elliot, A., Levecke, B., Robertson, I., Geurden, T., Steele, J., Drake, B., Thompson, R.C.A. Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from zoo animals and their animal-keepers. *Vet Parasitol* 2010, 169, 8–17
- Pipatsatitpong D, Rangsin R, Leelayoova S, Naaglor T, Mungthin M. Incidence and risk factors of *Blastocystis* infection in an orphanage in Bangkok, Thailand. *Parasit Vectors* 2012, 14, 37
- Piperni E, Nguyen LH, Manghi P, Kim H, Pasolli E, Andreu-Sánchez S, Arrè A, Bermingham KM, Blanco-Míguez A, Manara S, et al. Intestinal *Blastocystis* is linked to healthier diets and more favorable cardiometabolic outcomes in 56,989 individuals from 32 countries. *Cell* 2024, 187, 4554-4570.e18
- Ministère de la Santé, République de Guinée. Plan National de Développement Sanitaire (PNDS) 2015-2024. Mars 2015. Disponible: https://portail.sante.gov.gn/wpcontent/uploads/2022/08/Plan_National-de-Développement-Sanitaire-2015-2024-Août-2015.pdf
- Poirier, P., Wawrzyniak, I., Albert, A., El Alaoui, H., Delbac, F., Livrelli, V. Development and Evaluation of a Real-Time PCR Assay for Detection and Quantification of *Blastocystis* Parasites in Human Stool Samples: Prospective Study of Patients with Hematological Malignancies. *J Clin Microbiol* 2011, 49, 975–983
- Popruk, S.; Pintong, A.-R.; Radomyos, P. Diversity of *Blastocystis* subtypes in humans. *J Trop Med Parasitol* 2013, 36, 88–97

- Poulsen C.S., Efunshile A., Nelson J.A., Stensvold C.R. Epidemiological aspects of *Blastocystis* colonization in children in Ilero, Nigeria. *Am J Trop Med Hyg* 2016, 95, 175–179
- Pozio E, Morales MA. The impact of HIV-protease inhibitors on opportunistic parasites. *Trends Parasitol* 2005, 21, 58-63
- Puthia, M. K., Vaithilingam, A., Lu, J., Tan, K. S. W. Degradation of human secretory immunoglobulin A by *Blastocystis*. *Parasitol Res* 2005, 97, 386–389
- Puthia, M. K., Lu, J., Tan, K. S. W. *Blastocystis ratti* contains cysteine proteases that mediate interleukin-8 response from human intestinal epithelial cells in an NF-kappaB-dependent manner. *Eukar Cell* 2008, 7, 435–443
- Rajamanikam, A., Kumar, S., Samudi, C., Kudva, M. Exacerbated symptoms in *Blastocystis* sp.-infected patients treated with metronidazole: two case studies. *Parasitol Res* 2018, 117, 2585–2590
- Ramírez J.D., Sánchez A., Hernández C., Florez C., Bernal M.C., Giraldo J.C., Reyes P., Lopez M.C., Garcia L., Cooper P.J., et al. Geographic distribution of human *Blastocystis* subtypes in South America. *Infect Genet Evol* 2016, 41, 32–35
- Rauff-Adetotun A.A., Meor Termizi F.H., Shaari N., Lee I.L. The coexistence of *Blastocystis* spp. in humans, animals and environmental sources from 2010–2021 in Asia. *Biology* 2021, 10, 990
- Reynolds LA, Finlay BB, Maizels RM. Cohabitation in the Intestine: Interactions among Helminth Parasites, Bacterial Microbiota, and Host Immunity. *J Immunol* 2015, 195, 4059-4066
- Ripert C, Guyot K. Epidémiologie des maladies parasitaires. *Int EM Ed* 2003, 3, 269-297
- Roberts, T., Barratt, J., Harkness, J., Ellis, J., Stark, D. Comparison of Microscopy, Culture, and Conventional Polymerase Chain Reaction for Detection of *Blastocystis* sp. in Clinical Stool Samples. *Am J Trop Med Hyg* 2011, 84:, 308–312
- Roberts, T., Stark, D., Harkness, J., Ellis, J. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates identified in a Sydney population and pathogenic potential of *Blastocystis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013, 32, 335–343
- Roberts, T., Bush, S., Ellis, J., Harkness, J., Stark, D. 2015. *In Vitro* antimicrobial susceptibility patterns of *Blastocystis*. *Antimicrobial Agents Chem* 2015, 59, 4417–4423
- Robertson LJ, Johansen ØH, Kifleyohannes T, Efunshile AM, Terefe G. *Cryptosporidium* Infections in Africa—how important is zoonotic transmission ? a review of the evidence. *Front Vet Sci* 2020, 7, 575881
- Rojas-Velázquez, L.; Morán, P.; Serrano-Vázquez, A.; Portillo-Bobadilla, T.; González, E.; Pérez-Juárez, H.; Hernández, E.; Partida-Rodríguez, O.; Nieves-Ramírez, M.; Padilla, A.; et al. The regulatory function of *Blastocystis* spp. on the immune inflammatory response in the gut microbiome. *Front Cell Infect Microbiol* 2022, 12, 967724

Roshan, N., Clancy, A., Gunaratne, A. W., LeBusque, A., Pilarinos, D., Borody, T. J. 2020. Two-day enema antibiotic therapy for parasite eradication and resolution of symptoms. *World J Gastroenterol* 2020, 26, 3792

Rossignol JF. Nitazoxanide in the treatment of acquired immune deficiency syndrome-related cryptosporidiosis: results of the United States compassionate use program in 365 patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2006, 24, 887-894

Rudzińska M, Sikorska K. Epidemiology of *Blastocystis* Infection: A Review of Data from Poland in Relation to Other Reports. *Pathogens* 2023, 12, 1050

Růžková J, Květoňová D, Jirků M, Lhotská Z, Stensvold CR, Parfrey LW, Jirků Pomajbíková K. Evaluating rodent experimental models for studies of *Blastocystis* ST1. *Exp Parasitol* 2018, 191, 55-61

Ryan UM, Feng Y, Fayer R, Xiao L. Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia* - a 50 year perspective (1971-2021). *Int J Parasitol* 2021, 51, 1099-1119

Ryckman M, Gantois N, Dominguez RG, Desramaut J, Li LL, Even G, Audebert C, Devos DP, Chabé M, Certad G, Monchy S, Viscogliosi E. Molecular Identification and Subtype Analysis of *Blastocystis* sp. Isolates from Wild Mussels (*Mytilus edulis*) in Northern France. *Microorganisms* 2024, 12, 710

Salvador, F., Sulleiro, E., Sánchez-Montalvá, A., Alonso, C., Santos, J., Fuentes, I., Molina, I. Epidemiological and clinical profile of adult patients with *Blastocystis* sp. infection in Barcelona, Spain. *Parasit Vectors* 2016, 9, 548

Sanggari A., Komala T., Rauff-Adetotun A.A., Awosolu O.B., Attah O.A., Farah Haziqah M.T. *Blastocystis* in captivated and free-ranging wild animals worldwide: A review. *Trop Biomed* 2022, 39, 338–372

Santín, M., Gómez-Muñoz, M.T., Solano-Aguilar, G., Fayer, R. Development of a new PCR protocol to detect and subtype *Blastocystis* spp. from humans and animals. *Parasitol Res* 2011, 109, 205–212

Santin M., Figueiredo A., Molokin A., George N.S., Köster P.C., Dashti A., Gonzalez-Barrio D., Carmena D., Maloney J.G. Division of *Blastocystis* ST10 into three new subtypes: ST42-ST44. *J Eukaryot Microbiol* 2024, 71, e12998

Sawant M., Benamrouz S., Chabé M., Guyot K., Costa D., Favennec I., Gargala G., Viscogliosi E., Certad G. La cryptosporidiose et son impact en santé publique. *Revue Biol Med* 2020, 352

Scanlan PD, Marchesi JR. Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces. *ISME J* 2008, 2, 1183–1193

Scanlan, P. D., Stensvold, C. R., Rajilić-Stojanović, M., Heilig, H. G., De Vos, W. M., O'Toole, P. W., Cotter, P. D. The microbial eukaryote *Blastocystis* is a prevalent and diverse member of the healthy human gut microbiota. *FEMS Microbiol Ecol* 2014, 90, 326–330

Scicluna, SM., Tawari, B., Clark, CG. DNA barcoding of *Blastocystis*. *Protist* 2006, 157, 77-85

- Seyer A, Karasartova D, Ruh E, Güreşer AS, Turgal E, Imir T, Taylan-Ozkan A. Epidemiology and Prevalence of *Blastocystis* spp. in North Cyprus. *Am J Trop Med Hyg* 2017, 96, 1164-1170
- Shams M, Shamsi L, Sadrebazzaz A, Asghari A, Badali R, Omidian M, Hassanipour S. A systematic review and meta-analysis on the global prevalence and subtypes distribution of *Blastocystis* sp. infection in cattle: A zoonotic concern. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2021, 76, 101650
- Shams M., Asghari A., Baniasad M., Shamsi L., Sadrebazzaz A. *Blastocystis* sp. in small ruminants: A universal systematic review and meta-analysis. *Acta Parasitol* 2022a, 67, 1073–1085
- Shams M, Shamsi L, Yousefi A, Sadrebazzaz A, Asghari A, Mohammadi-Ghalehbin B, Shahabi S, Hatam G. Current global status, subtype distribution and zoonotic significance of *Blastocystis* in dogs and cats: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors* 2022b, 15, 225
- Silberman, J. D., Sogin, M. L., Leipe, D. D., Clark, C. G. Human parasite finds taxonomic home. *Nature* 1996, 380, 398
- Squire SA, Ryan U. *Cryptosporidium* and *Giardia* in Africa: current and future challenges. *Parasit Vectors* 2017, 10, 195
- Stensvold, C. R., Clark, C. G. Current status of *Blastocystis*: A personal view. *Parasitol Int* 2016, 65, 763–771
- Stensvold C.R., Clark C.G. Pre-empting Pandora’s box: *Blastocystis* subtypes revisited. *Trends Parasitol* 2020, 36, 229–232
- Stensvold, R., Brillowska-Dabrowska, A., Nielsen, H.V., Arendrup, M.C. Detection of *Blastocystis hominis* in unpreserved stool specimens by using polymerase chain reaction. *J Parasitol* 2006, 92, 1081-1087
- Stensvold, C. R., Suresh, G. K., Tan, K. S. W., Thompson, R. C. A., Traub, R. J., Viscogliosi, E., Yoshikawa, H., Clark, C. G. Terminology for *Blastocystis* subtypes—a consensus. *Trends Parasitol* 2007a, 23, 93–96
- Stensvold, C.R., Arendrup, M.C., Jespersgaard, C., Mølbak, K., Nielsen, H.V. Detecting *Blastocystis* using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007b, 59, 303–307
- Stensvold C.R., Alfellani M.A., Norskov-Lauritsen S., Prip K., Victory E.L., Maddox C., Nielsen H.V., Clark C.G. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new subtype. *Int J Parasitol* 2009, 39, 473–479
- Stensvold, C. R., Smith, H. V., Nagel, R., Olsen, K. E. P. and Traub, R. J. Eradication of *Blastocystis* carriage with antimicrobials: Reality or delusion? *J Clin Gastroenterol* 2010, 44, 85–90
- Stensvold, C.R., Ahmed, U.N., Andersen, L.O., Nielsen, H.V. Development and Evaluation of a Genus-Specific, Probe-Based, Internal-Process-Controlled Real-Time PCR Assay for Sensitive and Specific Detection of *Blastocystis* spp. *J Clin Microbiol* 2012, 50, 1847–1851

- Stenzel, D. J., Boreham, P. F. *Blastocystis hominis* revisited. Clin Microbiol Rev 1996, 9, 563–584
- Suresh, K., Smith, H. V. and Tan, T. C. Viable *Blastocystis* cysts in Scottish and Malaysian sewage samples. Appl Environ Microbiol 2005, 71, 5619–5620
- Tai, W.-P., Hu, P.-J., Wu, J., Lin, X.-C. Six ulcerative colitis patients with refractory symptoms co-infective with *Blastocystis hominis* in China. Parasitol Res 2011, 108, 1207–1210
- Tan, K.S.W. *Blastocystis* in humans and animals: New insights using modern methodologies. Vet Parasitol 2004, 126, 121–144
- Tan, K.S.W. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev 2008, 21, 639–665
- Tan, T.C., Suresh, K.G., Thong, K.L., Smith, H.V. PCR fingerprinting of *Blastocystis* isolated from symptomatic and asymptomatic human hosts. Parasitol Res 2006, 99, 459–465
- Tan, K. S. W., Mirza, H., Teo, J. D. W., Wu, B., MacAry, P. A Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. Current Infect Dis Rep 2010, 12, 28–35
- Thakur R, Shiratori T, Ishida KI. Taxon-rich Multigene Phylogenetic Analyses Resolve the Phylogenetic Relationship Among Deep-branching Stramenopiles Protist 2019, 170, 125682
- Thathaisong U, Siripattanapipong S, Mungthin M, Pipatsatitpong D, Tan-ariya P, Naaglor T, Leelayoova S. Identification of *Blastocystis* subtype 1 variants in the Home for Girls, Bangkok, Thailand. Am J Trop Med Hyg 2013, 88, 352-358
- Tito, R.Y.; Chaffron, S.; Caenepeel, C.; Lima-Mendez, G.; Wang, J.; Vieira-Silva, S.; Falony, G.; Hildebrand, F.; Darzi, Y.; Rymenans, L.; et al. Population-level analysis of *Blastocystis* subtype prevalence and variation in the human gut microbiota. Gut 2019, 68, 1180–1189
- Tocci S, Das S, Sayed IM. An Update on *Blastocystis*: Possible Mechanisms of *Blastocystis*-Mediated Colorectal Cancer. Microorganisms 2024, 12, 1924
- Toychiev A, Navruzov B, Pazylova D, Davis N, Badalova N, Osipova S. Intestinal protozoa and helminths in ulcerative colitis and the influence of anti-parasitic therapy on the course of the disease. Acta Trop 2021, 213, 105755
- Tumwine JK, Kekitiinwa A, Nabukeera N, Akiyoshi DE, Rich SM, Widmer G, Feng X, Tzipori S. *Cryptosporidium parvum* in children with diarrhea in Mulago Hospital, Kampala, Uganda. Am J Trop Med Hyg 2003; 68, 710-715
- Tzipori S, Widmer G. A hundred-year retrospective on cryptosporidiosis. Trends Parasitol 2008, 24, 184-189
- Umbrello G, Pinzani R, Bandera A, Formenti F, Zavarise G, Arghittu M, Girelli D, Maraschini A, Muscatello A, Marchisio P, Bosis S. Hookworm infection in infants: a case report and review of literature. Ital J Pediatr 2021, 47, 26

- Van Gool, T., Weijts, R., Lommerse, E., Mank, T.G. Triple Faeces Test: an effective tool for detection of intestinal parasites in routine clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003, 22, 284–290
- Vennila, G.D., Kumar, G.S., Anuar, A.K., Rajah, S., Saminathan, R., Sivanandan, S., Ramakrishnan, K. Irregular shedding of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res* 1999, 85, 162–164
- Vogelberg, C., Stensvold, C. R., Monecke, S., Ditzen, A., Stopsack, K., Heinrich-Gräfe, U., Pöhlmann, C. *Blastocystis* sp. subtype 2 detection during recurrence of gastrointestinal and urticarial symptoms. *Parasitol Int* 2010, 59, 469–471
- Wang W., Owen H., Traub R.J., Cuttall L., Inpankaew T., Bielefeldt-Ohmann H. Molecular epidemiology of *Blastocystis* in pigs and their in-contact humans in Southeast Queensland, Australia, and Cambodia. *Vet Parasitol* 2014, 203, 264–269
- Wawrzyniak, I., Texier, C., Poirier, P., Viscogliosi, E., Tan, K. S. W., Delbac, F., El Alaoui, H. Characterization of two cysteine proteases secreted by *Blastocystis* ST7, a human intestinal parasite. *Parasitol Int* 2012, 61, 437–442
- Wawrzyniak, I., Courtine, D., Osman, M., Hubans-Pierlot, C., Cian, A., Nourrisson, C., Chabe, M., Poirier, P., Bart, A., Polonais, V., et al. Draft genome sequence of the intestinal parasite *Blastocystis* subtype 4-isolate WR1. *Genomics Data* 2015, 4, 22–23
- Wojcik GL, Korpe P, Marie C, Mentzer AJ, Carstensen T, Mychaleckyj J, Kirkpatrick BD, Rich SS, Concannon P, Faruque ASG, et al. Genome-wide association study of cryptosporidiosis in infants implicates PRKCA. *MBio* 2020, 11, e03343-19
- Wu, G., Yishu, X., Gaolu, C., Guangming, L.M.L., Jinglin, Z. Investigation of an epidemic outbreak of blastocystiasis. *Chinese J Parasitic Dis Control* 2000, 13, 25-27
- Wu, B., Yin, J., Texier, C., Roussel, M., Tan, K. S.-W. *Blastocystis* legumain is localized on the cell surface, and specific inhibition of its activity implicates a pro-survival role for the enzyme. *J Biol Chem* 2010, 285, 1790–1798
- Wu, Z., Mirza, H., Tan, K. S. W. Intra-subtype variation in enteroadhesion accounts for differences in epithelial barrier disruption and is associated with metronidazole resistance in *Blastocystis* subtype-7. *PLoS Negl Trop Dis* 2014a, 8, e2885
- Wu, Z., Mirza, H., Teo, J. D. W. and Tan, K. S. W. Strain-dependent induction of human enterocyte apoptosis by *Blastocystis* disrupts epithelial barrier and ZO-1 organization in a caspase 3- and 9-dependent manner. *BioMed Res Int* 2014b, 209163
- Xiao L. Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia* - a 50 year perspective (1971-2021). *Int J Parasitol* 2021, 51, 1099-1119
- Xiao L, Bern C, Limor J, Sulaiman I, Roberts J, Checkley W, et al. Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. *J Infect Dis* 2001, 183, 492 - 497
- Yason, J. A., Ajjampur, S. S. R., Tan, K. S. W. *Blastocystis* isolate B exhibits multiple modes of resistance against antimicrobial peptide LL-37. *Infect Immun* 2016, 84, 2220–2232

Yason, J. A., Koh, K. A. R. P., Tan, K. S. W. Viability screen of LOPAC1280 reveals phosphorylation inhibitor auranofin as a potent inhibitor of *Blastocystis* Subtype 1, 4, and 7 Isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2018, 62, 8

Yason JA, Liang YR, Png CW, Zhang Y, Tan KSW. Interactions between a pathogenic *Blastocystis* subtype and gut microbiota: in vitro and in vivo studies. *Microbiome* 2019, 7, 30

Yoshikawa, H., Nagano, I., Wu, Z., Yap, E.H., Singh, M., Takahashi, Y. Genomic polymorphism among *Blastocystis hominis* strains and development of subtype- specific diagnostic primers. *Mol Cell Probes* 1998, 12, 153-159

Yoshikawa, H., Wu, Z., Kimata, I., Iseki, M., Ali, I.K.M.D., Hossain, M.B., Zaman, V., Haque, R., Takahashi, Y. Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries. *Parasitol Res* 2004, 92, 22–29

Zierdt, C. H., Rude, W. S., Bull, B. S. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. *Am J Clin Pathol* 1967, 48, 495–501