



## Quantification des oocystes de *Cryptosporidium* spp. dans les biofilms de la station d'épuration des eaux usées de la Cité verte à Yaoundé au Cameroun et relations avec les variables physico-chimiques

Yongui Synthia<sup>1</sup>, Kapso Tchouankep Mireille<sup>2</sup>, Ajeegah Gideon<sup>3</sup>

Laboratory of Hydrobiology and Environment, Faculty of Science, University of Yaounde 1, Cameroun

\*Auteur correspondant: [ajeegahg@yahoo.com](mailto:ajeegahg@yahoo.com)

Reçu: le 05 mai 2024

Accepté: le 27 janvier 2025

Publié: le 05 février 2025

### Résumé

C'est par le développement et la santé du biofilm que l'efficacité de purification est plus ou moins élevée. Lorsque les *Cryptosporidium* sont soumis à un stress fréquent, elles se regroupent et forment ce que l'on appelle un biofilm. Les biofilms naturels présentent un réseau très compliqué. Les biofilms de *Cryptosporidium* sont responsables de plusieurs maladies chroniques. La recherche porte sur les détails de la distribution, de la morphologie et de la composition des biofilms, dans les systèmes d'épuration des eaux usées. C'est dans cette optique que le présent travail vise à la quantification des biofilms en relation avec les variables physico-chimiques. Le biofilm étant défini comme une communauté de microorganismes irréversiblement associée à une surface et enfermée dans une matrice de substance polymère extracellulaire. Pour cette étude les échantillons ont été prélevés dans la station d'épuration des eaux usées de la Cité verte grâce à des techniques appropriées. Pendant l'étude les MES et la couleur ont pratiquement eu le même profil de variation. Les valeurs ont graduellement diminué au fur et à mesure que l'épuration suit son cours. Les occurrences des biofilms sont significativement et positivement corrélées aux MES et à la couleur car nous avons constaté que les occurrences des biofilms de *Cryptosporidium* spp. ont été plus élevées en début de l'épuration dans les premiers bassins. Les organismes parasites sont généralement liés aux matières organiques en suspension dans l'eau. Cette liaison occasionnée par des interactions électrostatiques, celles de Lifshitz-Van der Waals et acides-bases de Lewis. En conclusion, cette étude montre que les biofilms servent non seulement de réservoir environnemental pour les oocystes, mais sont également capables de favoriser la multiplication de *Cryptosporidium* en milieu aquatique. La présence des biofilms dans les stations d'épuration des eaux usées c'est plutôt un avantage car ils renferment une multitude de la biomasse épuratrice utile à l'épuration de l'eau. Le modèle représente la bio croissance en la présence de nutriments, son effet sur le transfert de masse et son interaction avec l'hydrodynamique dans les stations d'épuration des eaux usées. Il fournit également un outil pour l'évaluation des conditions menant à une résistance accrue à la perméabilité par rapport à l'engorgement des canaux.

**Mots clés :** station d'épuration, biofilm, eaux usées

### Abstract

It is through the development and health of the biofilm that the purification efficiency is more or less high. When cryptosporidium are subjected to frequent stress, they group together and form what is known as a biofilm. Natural biofilms have a very complicated network. *Cryptosporidium* biofilms are responsible for a number of chronic diseases. Research is focusing on the details of the distribution, morphology and composition of biofilms in wastewater treatment systems. With this in mind, the

present work aims to quantify biofilms in relation to physico-chemical variables. A biofilm is defined as a community of microorganisms irreversibly associated with a surface and enclosed in a matrix of extracellular polymeric substance. For this study, samples were taken from the Cité verte wastewater treatment plant using appropriate techniques. During the study, TSS and colour showed virtually the same pattern of variation. The values gradually decreased as the treatment process progressed. Biofilm occurrences were significantly and positively correlated with TSS and colour, as we found that *Cryptosporidium* spp. were higher at the start of treatment in the first basins. Parasitic organisms are generally bound to organic matter suspended in the water. This binding is caused by electrostatic, Lifshitz-Van der Waals and Lewis acid-base interactions. In conclusion, this study shows that biofilms not only act as an environmental reservoir for oocysts, but are also capable of promoting the multiplication of *Cryptosporidium* in aquatic environments. The presence of biofilms in wastewater treatment plants is an advantage, as they contain a multitude of purifying biomass useful for water purification. The model represents bio-growth in the presence of nutrients, its effect on mass transfer and its interaction with hydrodynamics in wastewater treatment plants. It also provides a tool for assessing the conditions leading to increased resistance to permeability in relation to channel clogging.

**Key words :** *wastewater treatment plant, biofilm, wastewater*

## **I. INTRODUCTION**

La gestion des eaux usées représente un problème à l'échelle mondiale ; pour pallier à ce problème les sociétés ont recouru aux installations qui permettent l'épuration de ces eaux avant leur rejet dans l'environnement afin de minimiser les risques sanitaires. Ces installations sont des stations d'épuration des eaux usées dans lesquelles les effluents qui y arrivent sont souvent fortement chargés en polluants de natures variées mais aussi en éléments parasitaires (Yongui et al., 2023). Parmi ces éléments parasitaires nous avons le cryptosporidium qui est un protozoaire parasite anthrozoonotique appartenant à l'embranchement des Apicomplexa. Le genre *Cryptosporidium* a récemment été classé dans la sous-classe *Cryptogregarina* de la classe des *Gregariniomorpha* (Ryan et al., 2016). Les individus de ce genre sont capables d'avoir des liaisons occasionnelles par des interactions électrostatiques, celles de Lifshitz-Van der Waals et acides-bases de Lewis (Dai et Boll, 2003).

Un biofilm est défini comme une communauté de microorganismes irréversiblement associée à une surface et enfermée dans une matrice de substance polymère extracellulaire (Donlan, 2002). C'est un ensemble des microorganismes caractérisés par la formation d'un film ou d'une membrane adhésive et protectrice (Donlan, 2002). Il commence à se développer autour de la matière biologique et inerte, comme la roche, le plastique, entre autres, adhérant parfaitement à la surface (Donlan, 2002). Les micro-organismes unicellulaires peuvent présenter deux modes de comportement et de développement distincts. Le

premier est la forme planctonique, dans laquelle les cellules séparées les unes des autres se déplacent ou nagent indépendamment les unes des autres dans un milieu liquide (Lefebvre et al., 2021). Le second est l'état agrégé, dans lequel les cellules sont étroitement et fermement fusionnées les unes avec les autres, adhérant généralement à une surface solide. Au sein des systèmes d'épuration des eaux usées, il y a un développement de biofilm qui varie selon le type de polluant contenu dans l'effluent et la quantité d'oxygène dissous (Lefebvre et al., 2021).

Certains paramètres physico-chimiques ont été étudiés. Parmi eux, la rugosité, l'attachement médié par les ions (en particulier  $Ca^{2+}$ ) et les micro-organismes constituant le biofilm semblent importants compte tenu de l'intégration et de la libération des oocystes à partir du biofilm. Cependant, beaucoup de travail reste à faire, notamment en ce qui concerne la composition microbienne du biofilm et les interactions polymicrobiennes (Lefebvre et al., 2021). De plus, l'analyse des données dans le cadre de cette revue a clairement démontré des lacunes dans les investigations biologiques entre les oocystes de *Cryptosporidium* et l'intégration du biofilm.

Actuellement, les recherches biologiques sur les oocystes intégrés dans le biofilm sont très limitées. De nombreuses questions demeurent, notamment sur l'impact sur la santé publique et la prévention des épidémies. Combien de temps les oocystes restent-ils infectieux dans le biofilm ? La libération d'oocystes à partir du biofilm présente-t-elle un risque pour la santé humaine ?

Existe-t-il des interactions avec des micro-organismes constituant des biofilms ? Les prédateurs naturels de micro-organismes, tels que les amibes libres, sont-ils capables de phagocyter les oocystes ?

Des études menées dans le monde très peu sont en Afrique subsaharienne en général et au Cameroun en particulier de plus de nombreuses questions demeure. C'est dans cette optique que le présent travail vise à la Quantification des biofilms des oocystes de *Cryptosporidium* spp. dans de la station d'épuration des eaux usées de la Cité verte à Yaoundé au Cameroun et influence des paramètres physico-chimiques. Il s'agit plus spécifiquement de déterminer les paramètres physico-chimiques de l'effluent, quantifier les biofilms et enfin d'évaluer la relation entre ces paramètres physico-chimiques et l'occurrence des biofilms.

## II. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Cadre géographique

La ville de Yaoundé est la capitale politique du Cameroun, le Chef-lieu de la région du centre et du département Mfoundi. Elle est située sur la bordure du plateau Sud-Camerounais et dans l'interfluve des fleuves Nyong et Sanaga entre le 3°30' et le 3°58' de latitude Nord et entre le 11°20' et le 11°40' de longitude Est (Suchel, 1987) à 750 m d'altitude en moyenne. Le climat qui y règne est de type équatorial chaud et humide (climat yaoundéen). Il est composé de quatre saisons inégalement réparties dans le temps comprenant : une grande saison sèche (GSS) qui s'étend de mi-novembre à mi-mars, une petite saison de pluies (PSP) qui va de mi-mars à fin mai, une petite saison sèche (PSS) qui va de juin à août, une grande saison de pluies (GSP) qui va de septembre à mi-novembre (Suchel, 1987). Une température moyenne de 23,5°C contrastée entre 16 et 31°C selon les saisons et 1650mm d'eau par an. L'hygrométrie moyenne est de 80% et varie dans la journée entre 35 et 98%. La végétation est de type intertropical avec prédominance de la forêt humide méridionale (Wéthé.J et al., 2003). Sur le plan géologique la roche-mère qui constitue le substratum géologique des sols de Yaoundé dérive d'un matériau quartzofeldspathique plus ou moins micacé (Pelletier, 1969), d'où l'acidité de ces sols avec un pH fluctuant autour de 4,5 et 5,5 U.C dans les couches superficielles.

Cette étude s'est effectuée dans la station de la Cité verte qui est une station à système hybride filtres (massif filtrant constitué de différents matériaux de taille variable que sont les pierres grossières, les graviers, les sables grossiers et fins) et plantes traitant la pollution urbaine des eaux usées domestiques du Camp SIC de la Cité verte. La chaîne d'épuration comporte un prétraitement assuré par un dégrilleur, un décanteur/dessableur et déshuileur. Le traitement primaire est assuré par la décantation des matières. Les eaux cheminent dans deux bassins.

biologiques avec la plante épuratrice *echinocloa pyramidalis* (traitement secondaire). Les eaux épurées cheminent vers le bassin de l'Abiergue utilisé pour l'agriculture. Les échantillons ont été prélevés dans le collecteur principal à l'exutoire de la station de traitement à l'aide de flacons en polyéthylène à double bouchage de 1000 mL après agitation de l'effluent afin de remettre les particules en suspension (Figure 1).

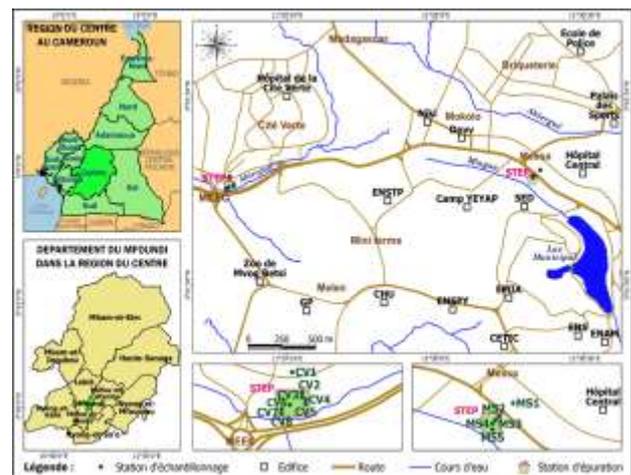


Figure 1: Carte des stations d'échantillonnage (CV : Cité verte et MS : Messa) (INC modifiée, 2022).

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Méthode d'échantillonnage

Les prélèvements d'eau pour les analyses se sont déroulés sur le terrain suivant les recommandations de Rodier *et al.* (2009). Les échantillons d'eau ont été prélevés à l'aide des flacons en polyéthylène à double bouchage de 250 et 1000 mL et ramenés au laboratoire en enceinte réfrigérée.

## 2.2.2. Méthodes d'analyses

### a. Mesures des paramètres physico-chimiques : Matières en Suspension (MES) et Couleur.

Les MES et la couleur de l'eau ont été mesurées par colorimétrie au spectrophotomètre HACH DR/2010, aux longueurs d'onde respectives de 810 nm et de 455 nm. Les résultats sont exprimés respectivement en mg/L et en U. Pt-Co (Unité Platini-um-Cobalt) Rodier *et al.* (2009).

### b. Analyses des agents parasitaires

#### b1. Méthode de sédimentation

Après homogénéisation du culot, 5mL de l'échantillon ont été prélevés et introduits dans un tube à essai. Puis, 1mL de formol 10% a été ajouté pour assurer la fixation des organismes, 5 mL d'eau distillée et 2 gouttes de Lugol ont été successivement ajoutés. Le mélange obtenu a été centrifugé 1500 tours/min pendant 5 min à l'aide d'une centrifugeuse de marque MINOR35. Par la suite, 1 à 2 gouttes de culot ont été prélevées au fond du tube et déposées sur une lame porte-objet et recouvertes d'une lamelle pour observation au microscope de marque YVIMEN à l'objectif 40X.

#### B1. Méthode de coloration de Ziehl – Neelsen modifiée

C'est une méthode qui permet de mettre en évidence les oocystes de protozoaires. Elle consiste à la coloration des lames. En effet, une solution de sulfate de zinc 10 % (permettant aux oocystes de flotter) est ajoutée aux échantillons prélevés et répartis dans les tubes à essais. Les contenus de ces tubes à essais sont ensuite centrifugés à 500 tours/min pendant 5 min à l'aide d'une centrifugeuse de marque MINOR35 pour faire flotter les oocystes. Le surnageant est prélevé à l'aide d'une micropipette et distribué sur des lames qui sont par la suite séchées à l'air pour favoriser l'adhésion de l'échantillon sur les lames. Les lames sont fixées au méthanol et colorées à la fuchsine basique respectivement pendant 1 et 5 minutes, rincées à l'eau distillée et à l'acide sulfurique 2 % (jouant le rôle de décolorant des organismes autres que les oocystes) pendant 2 minutes. Les lames sont rincées de nouveau et une contre coloration a été

réalisée au bleu de méthylène 5 % (qui colore les autres structures ou organismes à l'exception des oocystes).

### c. Identification et dénombrement des kystes et des Oocystes.

L'identification des organismes a été réalisée selon plusieurs critères notamment la taille, la forme, le nombre de noyaux, le contenu du cytoplasme, ceci à l'aide des planches de l'OMS (1994), Viviane Guillaume (2007) et Cheikhrouhou Fatma (2010). En plus, la taille des kystes a été mesurée à l'aide du micromètre oculaire. Ainsi, le dénombrement et l'identification ont été effectués à l'aide de la formule proposée par Ajeagah *et al.* (2010) et à l'aide de planches de l'OMS. Le nombre (x) de kystes contenus dans 1L d'échantillon est obtenu par la formule :  $X = \frac{y.Vx}{Vy}$ .

Avec :  $Vx$  = volume du culot dans 1 L d'échantillon,  $Vy$  = volume du culot utilisé pour observation,  $y$  = nombre de kystes observés dans  $Vy$ .

### d. Analyse statistique : Test de corrélation de rang « r » de Spearman

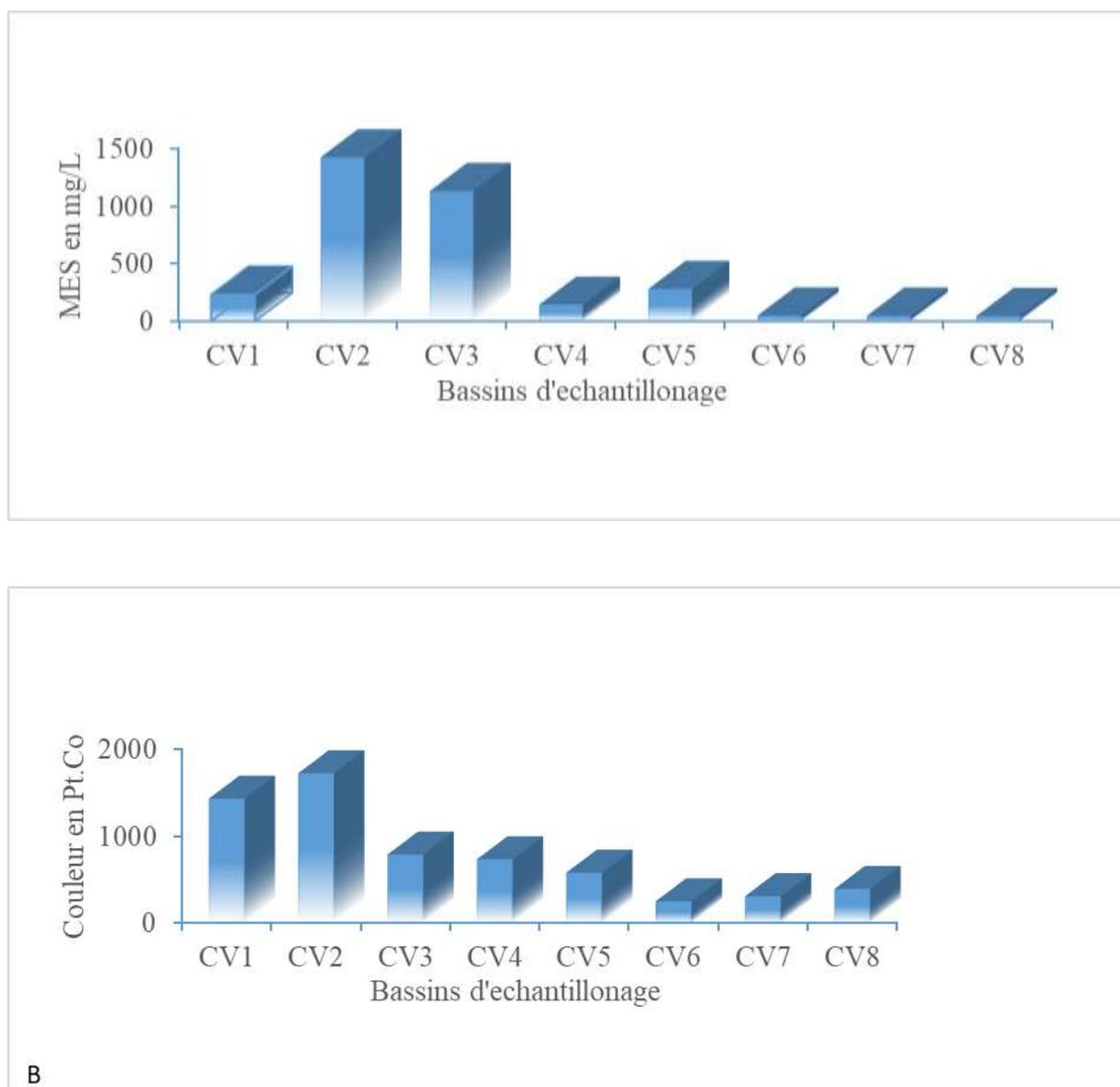
La distribution étant anormale, les corrélations de rang de Spearman ont permis d'évaluer le degré de liaison entre les paramètres physicochimiques d'une part, et physico-chimiques et biologiques d'autre part. Les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS 16.0 et les résultats appréciés au seuil de sécurité de 99 % ( $P < 0,01$ ) et 95 % ( $P < 0,05$ ). Les analyses statistiques ont été effectuées avec l'application SPSS 20.0 et Excel 2016.

## 3. Résultats

### 3.1. Paramètres physico-chimiques

A la station de la Cité verte les valeurs des MES ont varié de 44 mg/L CV8 à 1419 mg/L CV2 (Figure 2 A). Le test Kruskal-Wallis ne montre aucune différence significative ( $p=0,429$ )

La couleur a varié de 245 Pt.Co CV6 à 1719 Pt.Co CV2 (Figure 2 B). Le test Kruskal-Wallis ne montre aucune différence significative ( $p=0,429$ ).

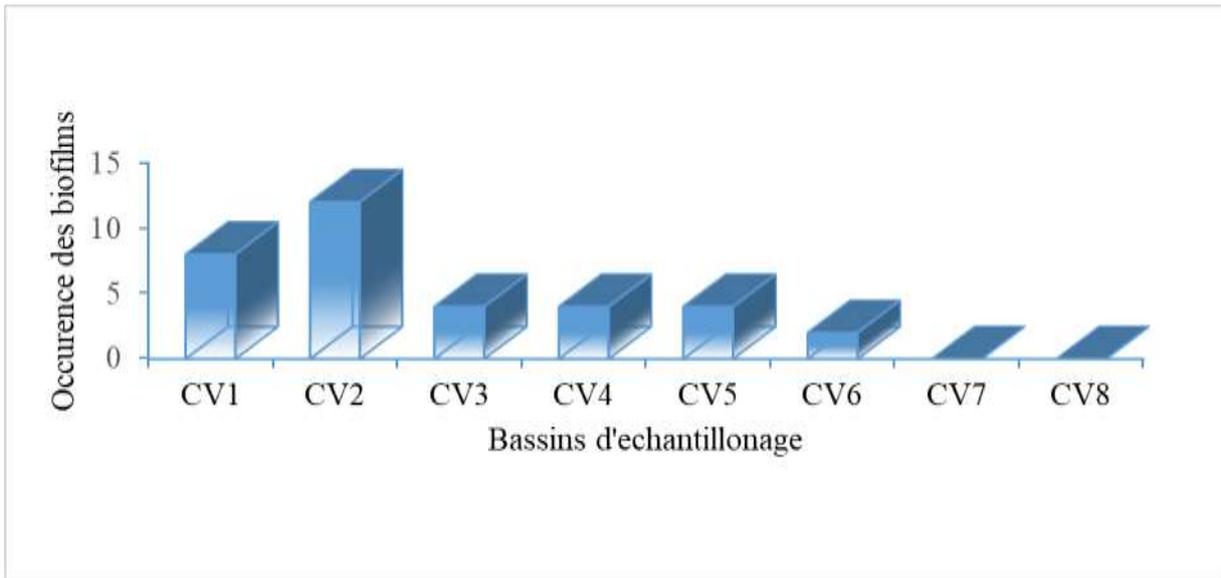


**Figure 2 :** Variations des MES (A) et de la couleur (B) pendant la période d'échantillonnage

### 3.2. Paramètres biologiques

Concernant l'occurrence des biofilms on note une variation décroissante de l'entrée de la station à l'exutoire. L'occurrence la plus

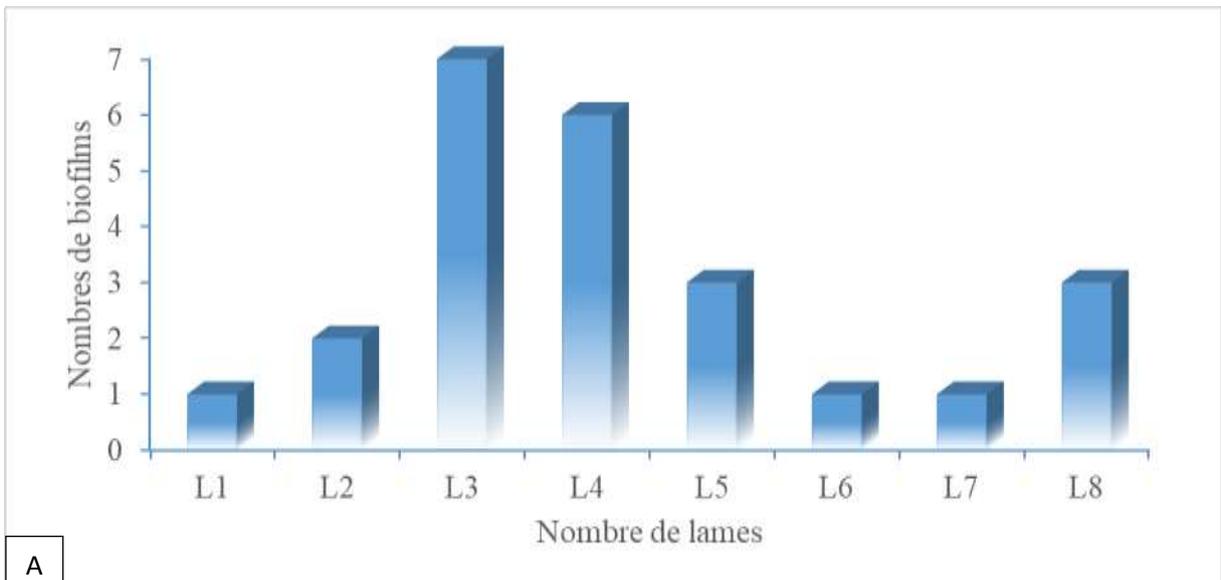
élevée a été obtenue à CV2 comme le montre la figure 3. Le test Kruskal-Wallis ne montre aucune différence significative ( $p=0,429$ ).



**Figure 3 :** Occurrence des biofilms de *Cryptosporidium* spp. observés pendant l'étude

Nous remarquons que sur les lames nous avons observé différents biofilms avec plus ou moins d'individus. Les oocystes observés sont accolés les uns aux autres avec des biofilms ayant des associations allant de deux oocystes

à 45 oocystes. La lame avec le plus grand nombre de biofilms a été la lame 3 avec 7 biofilms tandis que la lame 7 a eu le plus grand nombre d'oocystes (Figure 4).



A

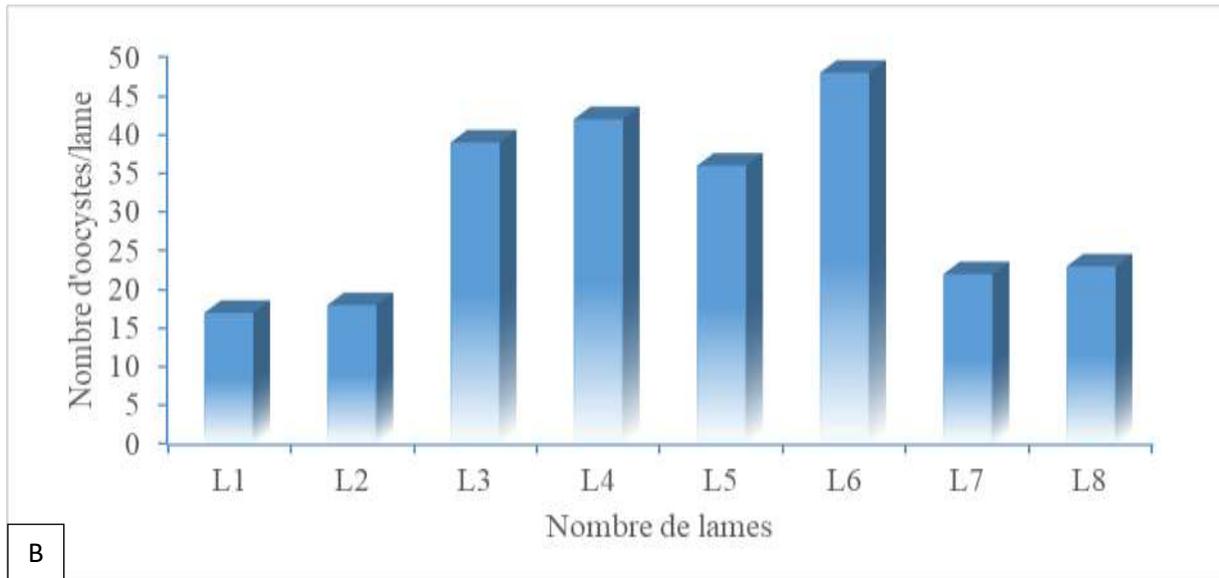


Figure 5 : Nombres de biofilms (A) et d'oocystes (B) en fonction des lames

### 3.3. Corrélation entre les variables physico-chimiques et l'occurrence des biofilms

Nous constatons que des corrélations significatives ont été observées entre la couleur, les MES et les occurrences des

biofilms de *Cryptosporidium* spp.. Ceci au seuil 1% et 5%.

<b>MES</b>	<b>MES</b>		
Couleur	,786*	Couleur	
Occurrence	,872**	,896**	Occurrence

\* seuil 5%

\*\* seuil 1%

### Discussion

Pendant l'étude, les variations des MES et de la couleur ont pratiquement eu le même profil de variation. Les valeurs ont graduellement diminué au fur et à mesure que l'épuration suit son cours, cette diminution serait due à l'abattement de la charge polluante. Les valeurs très élevées de ces paramètres dans les premiers bassins seraient dues au fait que l'effluent qui entre dans la station est constitué d'eau vanne et des eaux usées issues des activités domestiques. Ces dernières étant très riches en matière organique et en autres déchets. En effet, selon l'OMS (2011), ces paramètres sont liés à la présence de la matière organique associée aux particules en suspension dans l'eau.

De cette étude nous avons constaté que les occurrences des biofilms sont significativement et positivement corrélées aux

MES et à la couleur car, nous avons constaté que les occurrences des biofilms de *Cryptosporidium* spp. ont été plus élevées en début de l'épuration dans les premiers bassins. Les organismes parasites sont généralement liés aux matières organiques en suspension dans l'eau à traiter. Cette liaison occasionnée par des interactions électrostatiques, celles de Lifshitz-Van der Waals et acides-bases de Lewis (Dai et Boll, 2003) faciliteraient leur dissémination dans le milieu aquatique. En effet, Ashbolt (2004) souligne que les kystes généralement liés aux substrats présentent une forte résistance.

L'intégration des oocystes de *Cryptosporidium* dans le biofilm a été clairement démontrée. Les biofilms associés au substrat devraient être systématiquement pris en compte dans les études environnementales sur les oocystes. Par conséquent, de futurs travaux sur les interactions entre les biofilms d'oocystes sont

attendus pour une meilleure compréhension du risque infectieux potentiel pour l'homme et de sa gestion. On peut estimer la viabilité (mais non l'infectiosité) des oocystes en les soumettant à des conditions semblables à celles qui existent dans l'intestin, afin de stimuler le dékystement (c.-à-d. la libération des trophozoïtes et des sporozoïtes) (wolyniak *et al.*, 2012). Les divers facteurs et les conditions de dékystement varient considérablement et peuvent conduire à des observations divergentes. Si les oocystes sont capables de dékystement, ils sont considérés comme viables. Il est également possible de dékyster des oocystes de *Cryptosporidium parvum* (Hijjawi, 2010).

La preuve de la distribution potentielle des oocystes de *Cryptosporidium* dans le biofilm a été fournie pour la première fois par Skraber *et al.* (2007) montrant la présence d'oocystes dans des biofilms polymicrobiens développés sur des coupons de polychlorure de vinyle (PVC) immergés pendant au moins 2 mois dans les eaux usées. Wu *et al.* (2012) ont étudié l'adhésion des oocystes de *C. parvum* à un grand nombre de matériaux polymères. Ils ont observé une adhésion optimale des oocystes à des matériaux à faible rugosité de surface (proche de la rugosité de surface des oocystes) et ont suggéré que, comme déjà connu pour les bactéries, des irrégularités conformes à la taille des oocystes pourraient augmenter l'adhésion en raison de la maximisation des parasites au niveau de la zone de contact superficielle. Toutefois, contrairement aux biofilms bactériens qui jouent un rôle principal dans le procédé d'épuration, les biofilms protozoaires seraient des indicateurs d'évaluation de la performance d'épuration. En effet, le gradient bio décroissant entre les différents phases (bassins) de traitement indiquerait l'épuration efficace (Figure 3) alors qu'un gradient bio croissant serait une preuve de faible performance de traitement des eaux usées associée à des risques sanitaires.

Les biofilms constituent un environnement plus stable et une protection pour les organismes qui y sont fixés, car les substances extra-polymériques protègent les cellules contre les changements des conditions environnementales (Okabe *et al.*, 1997, Wu *et al.*, 2012 et wolyniak *et al.*, 2016). Cette protection démontrée, pour les cellules des biofilms bactériens en réponse aux pressions

environnementales et aux agents antimicrobiens pourrait permettre aux agents pathogènes de survivre plus longtemps qu'ils ne le feraient au stade planctonique (Fletcher *et al.*, 1991, Costerton *et al.*, 1999 et Percival et Walker, 1999).

Searcy *et al.* (2006) ont suggéré que l'attachement des oocystes aux biofilms est contrôlé par l'architecture du biofilm et les interactions surface-chimie qui dépendent de la chimie de l'eau. Les caractéristiques d'un biofilm spécifique, notamment sa composition, son épaisseur et sa morphologie, dépendent du nombre et de la diversité des organismes présents dans l'eau, de la concentration et de la nature de la matière organique biodégradable, ainsi que des caractéristiques du matériau de support (Percival et Walker, 1999).

### **Conclusion**

En conclusion, cette étude montre que les biofilms servent non seulement de réservoir environnemental pour les oocystes, mais sont également capables de favoriser la multiplication de *Cryptosporidium* en milieu aquatique. La présence des biofilms dans les STEP serait plutôt est un indicateur d'évaluation de l'efficacité de traitement des eaux usées. Le modèle représente la bio croissance en la présence de nutriments, de son effet sur le transfert de masse et de son interaction avec l'hydrodynamique dans les STEP. Il fournit également un outil pour l'évaluation des conditions menant à une résistance accrue à la perméabilité par rapport à l'engorgement des canaux.

Références bibliographiques

**Ajeegah G., Njine T., Bilong B., Foto M., Wouafo N., Nola M., Di G. et Huw S. 2010.** Seasonal distribution of Enteric Opportunistic *Cryptosporidium* Spp. Oocysts and *Giardia* Spp. Cysts in a tropical water basin, Cameroon. *Water*, 2: 44-57.

**Ashbolt N. 2004.** Microbial contamination of drinking water and diseases outcomes in developing regions. *Toxicology*. 198(2) : 229-38.

**Cheikhrouhou F. 2010.** Les amibes, laboratoire de parasitologie-mycologie faculté de médecine-Sfax, 100p.

**Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. 1999.** Bacterial biofilms : a common cause of persistent infections. *Science*. 284 : 1318–1322.

**Dai X. et Boll J. 2003.** Evaluation of attachment the of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* to soil particles. *Journal of Environmental Quality*. 32 (1) : 296-304.

**Donlan RM. 2002.** Biofilms : microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*. 8:881–890.

**Fletcher M. 1991.** The physiological activity of bacteria attached to solid surfaces. *Adv. Microb. Physiol*. 32 : 53–85.

**Lefebvre M., Razakandrainibe R., Villena I., Favennec L., Costaa D. 2021.** *Cryptosporidium*-Biofilm Interactions. a Review. *Applied and environmental microbiology*. 24 : 83-20.

**Masangkay FR, Milanez GD, Tsiami A, Somsak V, Kotepui M, Tangpong J, Karanis P. 2020.** First report of *Cryptosporidium hominis* in a freshwater sponge. *Sci Total Environ*. 700 : 134447.

**OkabeS, Yasuda T, Watanabe Y. 1997.** Uptake and release of inert fluorescence particles by mixed population biofilms. *Biotechnol Bioeng*. 53 : 459–469.

**OMS. 2011.** Guidelines for drinking-water quality. 4<sup>th</sup> edition, Geneva, 564p.

**Percival SL, Walker JT. 1999.** Potable water and biofilms : a review of the public health implications. *Biofouling*. 14 :99–115.

**Ryan U, Paparini A, Monis P, Hijjawi N. 2016.** It's official – *Cryptosporidium* is a gregarine : what are the implications for the water industry ? *Water Res*. 105 : 305–313.

**Searcy KE, Packman AI, Atwill ER, Harter T. 2006.** Capture and retention of *Cryptosporidium parvum* oocysts by *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl Environ Microbiol*. 72 : 6242–6247.

**Suchel J B. 1987.** Les climats du Cameroun, Thèse de Doctorat d'Etat, Université Bordeaux III, 1186p. Thèse « Sciences de la Vie et de la Santé », univ. Joseph Fourier, Grenoble, 257 p.

**Skraber S, Helmi K, Willame R, Ferréol M, Gantzer C, Hoffmann L, Cauchie HM. 2007.** Occurrence and persistence of bacterial and viral faecal indicators in wastewater biofilms. *Water Sci Technol*. 55 : 377–385.

**Viviane G. 2007.** Parasitologie, auto-évaluation manipulation édition Boeck Université Bruxelles, 182 p.

**Wéthé J., Radoux M. et Tanawa E. 2003.** Assainissement des eaux usées et risques socio-sanitaires et environnementaux en zones d'habitat planifié de Yaoundé (Cameroun). *Revue en Science de l'environnement*. 5 (1): 23 - 25.

**Wolyniak DiCesare EA, Hargreaves BR, Jellison KL. 2012.** Bio film roughness determines *Cryptosporidium parvum* retention in environmental biofilms. *Appl Environ Microbio*. 178 : 4187- 4193.

**Wu M, Bridle H, Bradley M. 2012.** Targeting *Cryptosporidium parvum* capture. *Water Res*. 46 : 1715–1722.

**Yongui S., Ngono F. et Ajeegah G. 2023.** Efficiency of urban wastewater treatment plants (Messa and Cite verte) in the elimination of environmental forms of Coccidian protozoans in relationship with the organic variables of the ecosystems. *International journal of scientific research and engineering development*. 6 (3) : 803 – 815.