

UNIVERSIDAD DE PANAMA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGIA
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**Diversidad de helmintos presentes en agua crudas y potables de la Planta
Potabilizadora Centenario de Pacora.**

Danelys Enid Valdés Bravo

Trabajo de graduación para optar
por el título de Licenciatura en
Biología con Orientación en
Microbiología y Parasitología

República de Panamá

2022



TRIBUNAL EXAMINADOR

Título:

“DIVERSIDAD DE HELMINTOS PRESENTES EN AGUA CRUDAS Y POTABLES DE LA PLANTA POTABILIZADORA CENTENARIO DE PACORA”

Por:

Danelys Enid Valdés Bravo

Danelys Valdés

8-951-1810

Trabajo de Graduación presentado a consideración de la Escuela de Biología como requisito parcial para optar por el título de Licenciatura en Biología con Orientación en Microbiología y Parasitología.

Dra. Nidia Sandoval

Nidia R. Sandoval

M. Sc. Alberto Mena

Alberto Mena

M. Sc. Fermín Mejía

Fermín Mejía

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi familia y amigos, por el apoyo a lo largo de mi carrera.

A la Dra. Nidia Sandoval por el tiempo dedicado, como asesora principal de esta investigación, con su experiencia y paciencia. Por sus comentarios y acertadas correcciones.

A la Licenciada Blanca Marciaga, por la dirección y apoyo durante el trabajo y recolección de datos en campo, y la ayuda en el procesamiento de muestras en laboratorio.

A mis coasesores, M. Sc. Alberto Mena, y M. Sc. Fermín Mejía, por su tiempo y comprensión durante la investigación.

Al Dr. Ariel Magallón por su ayuda y recomendación en la prueba para el análisis estadístico de los datos.

Al Instituto de Acueductos y Alcantarillados Nacionales por el financiamiento de esta investigación, y permitirme el uso de sus instalaciones en la Planta Potabilizadora Centenario de Pacora y el laboratorio del Departamento de Calidad de agua ubicado en Corozal, Panamá.

A la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación por el Programa de Becas Internacionales de pregrado de excelencia para estudios en Ciencias básicas, que con su apoyo me ayudo a culminar con éxito mis estudios.

INDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
ANTECEDENTES	5
METODOLOGÍA	17
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	42
RECOMENDACIONES	43
BIBLIOGRAFÍA	45
ANEXOS	53

INDICE DE CUADROS

Cuadro. Leyenda.	Página
Cuadro 1. Taxonomía de los géneros de larvas encontrados en el estudio.	25
Cuadro 2. Contingencia de resultados de la prueba Diversity t test para los métodos de Bailenger y sedimentación-centrifugación.	31
Cuadro 3. Contingencia de resultados de las pruebas de Diversity t test para agua cruda y agua tratada.	32
Cuadro 4. Características físicas-químicas de las muestras de agua cruda de la Planta Potabilizadora Centenario de Pacora.	55
Cuadro 5. Características físicas-químicas de las muestras de agua tratada de la Planta Potabilizadora Centenario de Pacora.	55

INDICE DE FIGURAS

Figura. Leyenda.	Página
Fig. 1. Vista satelital de la planta Centenario (Google maps). Puntos de muestreo de agua tratada y cruda.	17
Fig. 2. Fases observadas en la metodología de Bailenger.	20
Fig. 3. Fases observadas en la metodología de sedimentación-centrifugación.	22
Fig. 4. Huevo de <i>Kalicephalus</i> , 20x.	26
Fig. 5. Huevo tipo Ascarideo 40x.	26
Fig. 6. Larvas de helmintos encontradas en agua cruda por época de muestreo.	27
Fig. 7. Larvas de helmintos encontradas en agua tratada por época de muestreo.	28
Fig. 8. Prevalencia de larvas de helmintos encontradas en el agua cruda por mes de muestreo.	29
Fig. 9. Prevalencia de larvas de helmintos encontradas en el agua tratada por mes de muestreo.	30

Fig. 10. Individual rarefaction para el agua cruda durante época seca vs época lluviosa.	33
Fig. 11. Individual rarefaction para el agua tratada durante época seca vs época lluviosa.	33
Fig. 12. Puertas oxidadas y a la intemperie de tanque de almacenamiento de la Planta Potabilizadora Centenario de Pacora.	40
Fig. 13. Valores físicos-químicos permitidos en el agua tratada por el reglamento técnico: DGNTI-COPANIT 21-2019.	55
Fig. 14. Estilete ejemplar de <i>Xiphinema</i> sp., 40x.	55
Fig. 15. Cola y abertura genital de larva ejemplar de <i>Xiphinema</i> sp. 40x.	56
Fig. 16. Larva de <i>Xiphinema</i> sp. a 20x.	56
Fig. 17. Abertura bucal de <i>Paraphanolaimus</i> sp. se observa estoma corto y estrecho 20x	57
Fig. 18. Larva de <i>Paraphanolaimus</i> sp. 10x	57
Fig. 19. Larva de <i>Strongyloides</i> sp. se observa cola bifurcada, 20x.	58

Fig. 20. Larva de <i>Strongyloides</i> sp. esófago corto y vaina, 40x.	58
Fig. 21. Larva de uncinaria, 20x.	59
Fig. 22. Larva de uncinaria, 20x.	59

RESUMEN

En la naturaleza existe una gran diversidad de helmintos habitando especialmente los cuerpos de agua o lugares en donde al menos esté cubierta con una película de agua. La Organización Mundial de la Salud, en 2006, toma en consideración que el agua de consumo no debe contener larvas maduras, ni huevos fertilizados viables, ya que un único ejemplar puede ocasionar una infección, debido a esto es de interés en esta investigación encontrarlos en aguas crudas y agua tratada en Panamá. Se utilizaron para el análisis de aguas el “Método de Bailenger modificado” y “Centrifugación-sedimentación con acetato de etilo”, este último es una adaptación del método para análisis de muestras clínicas (método de Ritchie). Se tomaron muestras agua tratada y cruda, por época seca y época lluviosa. Como resultado no se obtuvo diferencias significativas para los métodos utilizados. Además, en total se reportaron 72 larvas de helmintos, de 24 géneros distintos, pertenecientes a 11 órdenes y 21 familias del Phylum Nematoda, También se reportó un huevo de *Kalicephalus* sp. y un huevo tipo Ascarideo, ambos en agua cruda. El agua cruda reportó la mayor diversidad de helmintos nematodos, que el agua tratada. Ambas muestras también reportaron la mayor diversidad durante la época lluviosa.

Palabras clave: Helmintos, larvas, nematodos, diversidad, prevalencia.

INTRODUCCIÓN

Los helmintos son organismos metazoarios invertebrados parásitos de vida libre. Incluyen nematodos (gusanos redondos), trematodos (trematodos), cestodos (tenias) y acantocéfalos (gusanos de cabeza espinosa). Durante décadas, los helmintos de vida libre se han utilizado como modelos en estudios sobre los mecanismos utilizados para sobrevivir frente a los efectos patógenos de los micropatógenos (Plancarte & Nava, 2022). Bajo condiciones de un organismo aeróbico, los helmintos de vida libre sobreviven contra sus micropatógenos utilizando en algunas situaciones la capacidad tóxica de la molécula de oxígeno para inducir estrés oxidativo (Chávez et al., 2007).

En la naturaleza, los helmintos metazoos son predominantes que viven en el agua, viven en la meiofauna, ubicada en los sistemas bénticos entre los granos de arena y fango. En este entorno se destacan por ser miembros importantes de la red alimentaria béntica. Por su tamaño, se retienen en un tamiz con un tamaño de malla de 44 μm , y de esta forma se pueden capturar y estudiar (Ptatscheck et al., 2020).

En la meiofauna, los nematodos son el grupo de metazoos más frecuente y rico en especies (Traunspurger et al., 2012). Dentro de hábitats marinos y de agua dulce, los nematodos pueden ocurrir en cantidades considerables, alcanzando densidades de millones de individuos por metro cuadrado (Ptatscheck & Traunspurger, 2020).

Los nematodos pueden ser de vida libre, en los que el nematodo es depredador de otros organismos, o un parásito de animal o plantas. Aparentemente, el estilo de vida de los nematodos fitoparásitos se considera homoplasioso (falsa homología) entre diferentes subclases (Almasco et al., 2021).

Por otro lado, los platelmintos acuáticos de vida libre son depredadores bentónicos polívoros que han sido bien caracterizados en los sistemas léntico y lótico. Se alimentan de otra macrofauna, así como de meiofauna más pequeña, tienen una dieta diversa que incluye: gasterópodos, pequeños anélidos, crustáceos y larvas de insectos, así como nematodos y muchos tipos de animales heridos o muertos (Kreuzinger-Janik et al., 2018).

Una dificultad en este grupo es que no hay una característica específica para distinguir a los nematodos del suelo (geohelminths) de vida libre, de los nematodos de agua dulce. En un estudio realizado por Zullini & Semprucci (2020), se encontraron diferencias de caracteres cualitativo/cuantitativos entre nematodos del suelo y de agua dulce. Las especies acuáticas y semiacuáticas son, en promedio, más largas y delgadas que las especies del suelo, con una cola más larga, mayor peso corporal, cutícula suave y anfidios más grandes.

Sin embargo, Baird & Bridgewater, 2017, también han logrado recrear una clave que nos ayuda a acercarnos a la identificación de los nematodos acuáticos con mayor seguridad.

En cuanto a los huevos de helmintos, estos cuentan con una alta resistencia a diversas condiciones ambientales, como la temperatura, el pH y la humedad, así

como a la desinfección con cloro; resistentes en algunos casos a filtración (Gaspard & Schwartzbrod, 1993; Maya et al., 2012; Kumar, 2016).

Gracias a la gran diversidad de nematodos en los cuerpos de agua, contaminando muchas veces hasta el agua tratada, es del interés en esta investigación encontrarlos en aguas crudas y agua tratada en Panamá.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Conocer la diversidad de helmintos presentes en aguas crudas y tratadas de la Planta Potabilizadora Centenario de Pacora

Objetivos específicos

- Reconocer los géneros de helmintos parásitos y de vida libre en muestras de agua de consumo humano.
- Establecer la diversidad y prevalencia de los helmintos encontrados en las aguas de los dos diferentes puntos de muestreo durante la época seca y la época lluviosa.
- Comparar las diferencias en las metodologías de concentración de helmintos utilizadas en el estudio.

ANTECEDENTES

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), 2006, las formas infecciosas de muchos helmintos nematodos y platelmintos parásitos, pueden transmitirse a las personas por medio del agua de consumo. La mayoría de los casos de riesgo de infección por helmintos se presenta en la población de bajos recursos y con hábitos higiénicos deficientes, como se ha constatado en Colombia, estos casos podrían estar relacionados, no solo con el nivel de vida de la población, sino con el contacto o consumo de aguas o alimentos contaminados (Campos et al., 2018).

Por otro lado, los helmintos no solo llevan vida como parásitos. En la naturaleza existe una gran diversidad de helmintos habitando especialmente los cuerpos de agua o lugares en donde al menos esté cubierta con una película de agua (Nguyen et al., 2022^a).

Características generales de los helmintos

Entre las características de los helmintos, se reconocen que son invertebrados eucariotas multicelulares con cuerpos en forma de tubo o aplanados y que exhiben simetría bilateral. Muchos helmintos son organismos de vida libre en ambientes acuáticos y terrestres, mientras que otros ocurren como parásitos en la mayoría de los animales y algunas plantas (Radhika & Bindu, 2018).

Los helmintos parásitos son una característica casi universal de los animales vertebrados; la mayoría de las especies tienen gusanos en alguna parte (Bhure et al., 2022).

En Panamá como país tropical, el grupo de helmintos más abundantes en la naturaleza son los nematodos y dentro de este grupo su reconocimiento e identificación puede requerir un gran esfuerzo del investigador y un entrenamiento constante.

Otros helmintos que pueden llevar vida parasita y encontrarse en los cuerpos de agua son los cestodos y los trematodos, que incluyen ciclos de vida complejos (con más de un hospedador), que deben estar acompasados en espacio y tiempo, en el ambiente (Oyarzún-Ruiz & González-Acuña, 2022).

Phylum Nematoda

Son gusanos redondos no segmentados, que se encuentran entre las formas de vida más abundantes en la tierra. La gran mayoría de son vida libre, habitando los nichos más esenciales como el suelo, agua dulce y salada, así como otros más, sólo algunos de estos infectan al humano. La mayoría de los nematodos parásitos desarrollaron una dependencia biológica altamente específica de una especie particular de hospedante, y son incapaces de sobrevivir en cualquier otro. Solo unos pocos han logrado adaptarse a una variedad de anfitriones (Dickson et al., 2017).

Los modos de dispersión subyacentes de los nematodos, consideran su movimiento activo en los sustratos y el agua, su deriva por el agua y el viento, el rafting (transporte pasivo de organismos en elementos bióticos o abióticos), la zoocoria (dispersión por animales más grandes) y los vectores mediados por

humanos. También cuentan con la capacidad de anclaje que les permite colonizar de manera estable sustratos duros incluso en entornos de alta energía, de modo que la dispersión posterior se realiza principalmente a través de rafting (Ptatscheck & Traunspurger, 2020).

Caenorhabditis elegans uno de los nematodos mayormente estudiado y utilizado como organismo modelo, ofrece uno de los ejemplos mejor caracterizados de una plasticidad fenotípica adaptativa: la formación de la larva Dauer (Haag et al., 2018). La larva Dauer parece ser una forma de dispersión universal para los nematodos terrestres parásitos y de vida libre (Crook 2014).

Las larvas de Dauer para restringir el agotamiento de reservas entran en un modo hipometabólico a través de un reordenamiento dramático de las vías anabólicas y catabólicas (Yilmaz & Walhout, 2016). De este modo el consumo de energía, la producción de calor, la respiración aeróbica y la actividad del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) se reducen significativamente. En este estado, los Dauer's pueden sobrevivir durante meses sin nutrición (Penkov et al., 2020). Este mecanismo nos brinda un ejemplo de las estrategias que pueden utilizar los nematodos para sobrevivir en los cuerpos de aguas.

De cualquier manera, los nematodos en el agua requieren ser identificados para determinar el potencial de causar infección como parásitos en los diversos hospedadores animales o vegetales, o bien, determinar si son organismos de vida libre.

Los procedimientos analíticos de rutina para la identificación de nematodos se basan comúnmente en dos pasos. En el primero se separan los huevos de otras partículas en las aguas residuales. Luego, un técnico capacitado identifica visualmente las diferentes especies de huevos de helmintos en sus diferentes etapas de vida; teniendo en cuenta, tamaño, forma, grosor, presencia o ausencia de tapones polares, etc. (Qazi et al., 2020).

Phylum Platyhelminthes

El Phylum Platyhelminthes incluye varios animales aplanados dorsoventralmente comúnmente conocidos como gusanos planos. Todos tienen simetría bilateral; órganos incrustados en una matriz celular sólida (el parénquima); un intestino en forma de saco sin ano; un sistema nervioso con un "cerebro" anterior y cuerdas nerviosas laterales; y fluidos internos regulados por protonefridia. La mayoría son hermafroditas de fecundación cruzada, con estructuras morfológicamente diversas como partes escleróticas del órgano copulador masculino que forma estiletes de diferentes formas y complejidad, y con huevos endolecital o ectolecital (Brusa et al., 2020).

Los gusanos planos son carnívoros y se alimentan de una variedad de organismos del suelo, como lombrices de tierra, isópodos, insectos y caracoles, y pueden causar daños económicos o ambientales. Las características morfológicas se han utilizado tradicionalmente como criterio para identificar y distinguir diferentes especies de planarias (Hu et al., 2019).

Entre los platelmintos se reconocen a los cestodos y a los trematodos. Ambos grupos depositan sus huevos en el ambiente, los cuales son pesados y su recuperación por métodos de flotación puede ser muy difícil (Verocai et al., 2020).

Huevos de helmintos enteroparásitos en aguas de consumo humano

La Organización Mundial de la Salud, en 2006, establece que la cantidad de huevos de helmintos intestinales humanos en agua residual debe ser <1 huevo por litro para que pueda ser usada en irrigación, se entiende que encontrar larvas o huevos en agua de consumo es alarmante. Así como también toman en consideración que el agua de consumo no debe contener larvas maduras, ni huevos fertilizados viables, ya que un único ejemplar puede ocasionar una infección, por lo que el hecho de que se encuentre larvas o formas parasitarias como lo son los huevos es alarmante.

En la Región de Moquegua, Perú, se tomaron muestras de agua provenientes de 48 sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano, de los cuales 17 fueron positivos para helmintos y protozoarios (*Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium parvum*). En total se identificaron 12 géneros diferentes de formas infectivas de helmintos: *Strongyloides* spp, uncinaria spp, *Fasciola hepatica*, *Trichostrongylus* spp, *Taenia* spp, etc. De los 48 sistemas de abastecimiento de agua de consumo evaluados 4 son plantas de tratamiento de agua de consumo, y las 4 plantas de tratamiento tuvieron presencia de protozoarios y helmintos; esto indica, que estas plantas de tratamiento de agua de consumo no están realizando un buen tratamiento en alguna de las etapas del

tratamiento. Estas plantas tienen un sistema de desinfección por uso de cloro, pero se sabe que no es útil para la eliminación de formas infectivas de protozoarios y helminto, por lo que el agua de estos sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano no es apta para el consumo de la población (Mamani, 2012).

En Venezuela, se obtuvieron resultados similares, donde se tomaron muestras de diez casas y un pozo profundo, el cual abastece a la comunidad "18 de mayo". En las muestras provenientes de las viviendas, se observó huevos de ancylostomideos (30%), *Trichuris trichiura* (20%) y *Ascaris lumbricoides* (10%). En el agua del pozo profundo no se encontraron huevos de helmintos, aunque el cloro residual se encontró ausente, lo que indica que el pozo no estaba recibiendo tratamiento de cloración, por lo que la presencia de helmintos en el agua de las viviendas denota contaminación en la red de distribución del agua. Los resultados obtenidos en esta investigación concluyeron que el agua empleada en la comunidad durante el periodo de estudio, presentaba contaminación parasitológica y no era apta para el consumo humano (Gallego et al., 2012).

En un estudio realizado en la Escuela Majara, Capira, Panamá, el análisis de las muestras de agua de consumo de las casas de niños de la región, se encontró un 3.8% de positividad, lo cual indicaba que el agua no es el factor principal de las parasitosis en dicha región en comparación a muestras de suelo y muestra vegetal. El parásito encontrado en la muestra de agua corresponde a *Eimeria* sp. que afecta principalmente a aves y mamíferos

domésticos, y se transmite mediante la ingestión de ooquistes esporulados (González et al., 2018).

Un estudio en Marruecos buscó determinar la ocurrencia de huevos de helmintos en aguas residuales urbanas y evaluar la eliminación de estos patógenos mediante dos sistemas de tratamiento de aguas residuales: lodos activados y lagunas naturales. Este estudio utilizó la metodología de Bailenger, la identificación parasitológica mostró la presencia de Nematodos y Cestodos. Las muestras de aguas residuales y lodos de depuradora de Marrakech contenían *Ascaris lumbricoïdes*, *Ancylostoma duodenale*, *Trichuris trichiura*, *Taenia* (Chaoua et al., 2018).

En el año 2019 se realizó una investigación en las orillas del río Chagres y se evaluó la prevalencia de parásitos de las aguas de río Chagres utilizadas para el consumo humano, en estas áreas viven comunidades indígenas y rurales que carecen de aguas seguras para su consumo. Los resultados encontrados revelaron que el 67% de las aguas de río usadas para el consumo y el 24% de las aguas de acueducto tenían parásitos. Además, se observó que las dos comunidades indígenas tienen un 40% de prevalencia parasitaria en comparación con el 21% de la comunidad rural (Juárez & Sandoval, 2021).

Métodos de análisis de aguas

La detección de huevos de helmintos y la cuantificación en tipo de muestras como aguas residuales, lodos, plantas, etc., puede variar debido a las diferencias en el contenido de humedad y la cantidad de sólidos o partículas de suelo, etc. Por

tanto, en las muestras ambientales, existe una heterogeneidad significativa en la detección de helmintos en estas muestras (Amoah et al., 2017).

Las técnicas microscópicas directas convencionales son en gran parte insensibles, y requieren mucho tiempo y trabajo para las muestras ambientales, por lo tanto, ahora se están aplicando cada vez más, diversas modificaciones de los métodos tradicionales. Debido a la dilución en el medio ambiente, las concentraciones de huevos de helmintos en las aguas residuales normalmente son muy bajas, lo que requiere el uso de grandes volúmenes (1–10 L) para la detección (Khurana et al., 2021).

Por esto se utilizan diferentes métodos de concentración como las mencionadas seguidamente y utilizadas en este estudio.

Método de flotación

Es un método de concentración donde las partículas de interés permanecen en la superficie de la solución cuya densidad es mayor, es decir, los huevos de helmintos tienen una densidad de entre 1.05 y 1.18 por lo que flotarán en líquidos con una densidad de entre 1.1 y 1.4. La ventaja de estos métodos es que producen una preparación más limpia de deyección que el procedimiento de sedimentación, facilitando mucho su observación microscópica. Las desventajas es que aquellos parásitos con mayor peso específico que la solución empleada no flotarán (huevos infértiles de *Ascaris lumbricoides* o huevos operculados) y que el tiempo en que debe hacerse la observación microscópica es menor debido a que la película superficial puede destruirse y los parásitos caer al fondo del tubo (Roque, 2018).

Método de sedimentación

Se basa en la concentración de elementos parasitarios por la acción de la gravedad, y se lleva a cabo suspendiendo la muestra. Es un método que ha sido modificada a través del tiempo desde la primera vez que fue informada por Telemann en 1908, agregando, por ejemplo, detergente neutro, o la sustitución del éter etílico por acetato de etilo. A comparación de los métodos de flotación, la desventaja que tienen los métodos de sedimentación es que a veces la observación microscópica puede dificultarse por la presencia de restos no parasitario, o la adherencia a los restos (Soares et al., 2020).

Uno de los métodos muy utilizados en el análisis de aguas es el “Método de Bailenger modificado” y “Centrifugación-sedimentación con acetato de etilo”, este último es una adaptación del método para análisis de muestras clínicas (método de Ritchie). En este caso ambas metodologías de concentración son considerados métodos bifásicos.

En un estudio de comparación del método de Ritchie y Bailenger para muestras clínicas, mostró que no hubo diferencias significativas entre ambos métodos en cuanto a la recuperación de parásitos, además en costo, el método de Bailenger resulta ser más costosa, sin embargo, resulta mucho más rápida que el método de Ritchie (Trabelsi et al., 2018).

Además, se ha demostrado que la exposición crónica a los compuestos orgánicos volátiles (COV) como los son el acetato de etilo, formaldehído y los éteres, pueden tener efectos negativos para la salud y aumentos en el riesgo de cáncer de por

vida. También pueden tener efectos estimulantes sobre órganos como la visión, el olfato y la respiración, además de dañar los órganos internos, como el corazón, los pulmones y el hígado, por lo cual es de importancia saber con qué reactivos se trabaja en el laboratorio, para cumplir ciertos criterios de bioseguridad en el laboratorio (Lamplugh et al., 2019; Cui et al., 2021).

Toxicidad de reactivos:

- Acetato de etilo: es un líquido incoloro con olor dulce y se usa en quitaesmaltes, pegamentos, descafeinado, en cigarrillos, pintura (como activador del endurecedor), perfume y dulces (como saborizante artificial), etc. Según la guía denominada “CHEM21 Selection Guide of Classical-and Less Classical Solvents” este solvente orgánico es clasificado como recomendado, ya que en ambiente y salud se encuentra en la escala 3 (Joshi & Adhikari, 2019; Mora-Barrantes et al., 2021).
- Formaldehido: La exposición a esta sustancia en concentraciones muy bajas (0.1 ppm) puede causar quemaduras en los ojos, lágrimas e irritación de las vías respiratorias superiores y en concentraciones altas (10–20 ppm) puede causar tos, opresión en el pecho, aumento del ritmo cardíaco y sentir presión en la cabeza. La exposición a una concentración de 50 a 100 ppm de vapores de formaldehído puede causar edema pulmonar, neumonitis o la muerte (Nielsen et al., 2017).
- Éter: los disolventes de éter comúnmente utilizados son éter dietílico, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, etc. Los disolventes de éter son tóxicos,

muchos modelos experimentales mostraron la toxicidad del éter para las células HepG2, toxicidad para los linfocitos sanguíneos, toxicidad testicular, carcinogenicidad (Souza et al., 2016; Salimi et al., 2016; Khalil et al., 2017; Dunnick et al., 2018).

- Ácido acético: según la guía denominada “CHEM21 Selection Guide of Classical-and Less Classical Solvents” este solvente orgánico es clasificado como problemático debido a su volatilidad, bajo punto de inflamabilidad y al potencial de causar quemaduras graves en la piel y daño ocular (Akelma & Karahan, 2019; Prat et al., 2016).

Debido a la alta toxicidad del éter en comparación al acetato de etilo, se decide reemplazar en la metodología de Bailenger modificada para aguas, el éter con acetato de etilo (Ayres & Duncan, 1997).

METODOLOGÍA

METODOLOGÍA

Descripción del sitio de estudio

El sitio de muestreo de la Planta Centenario del IDAAN se ubica en las coordenadas: 9° 05' 49" N-79° 17' 26" O (UTM: 687868.223E 1006013.312N 17P), dentro de la República de Panamá.

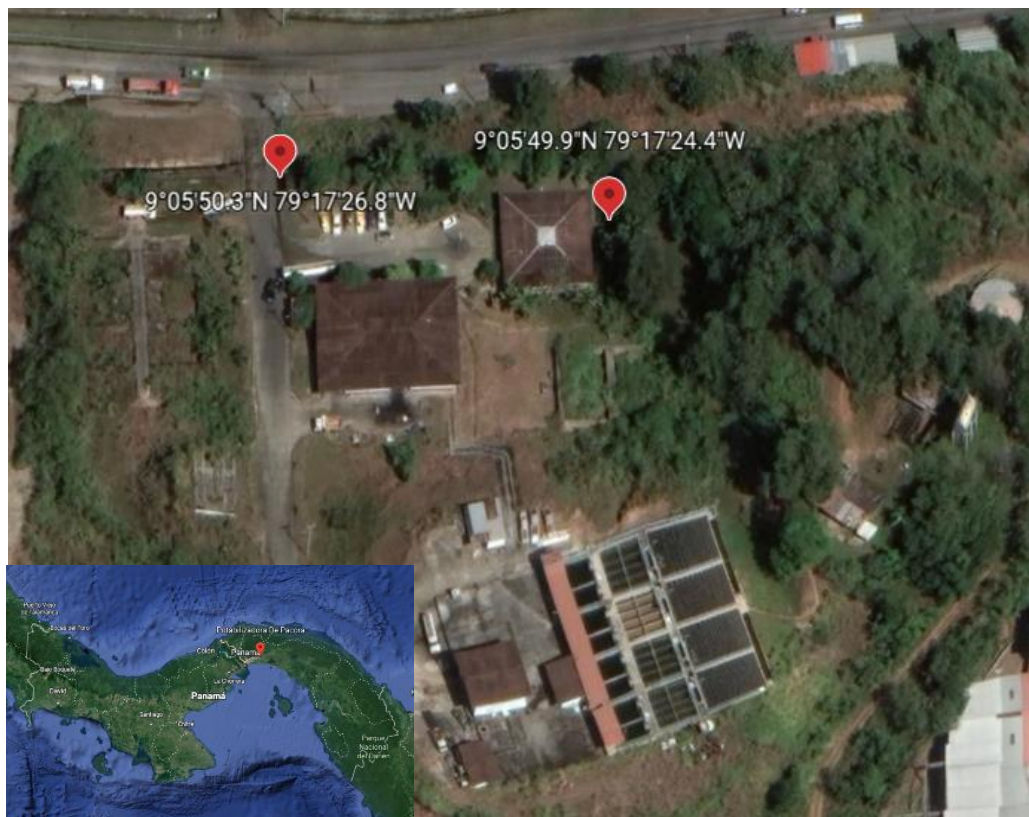


Fig. 1. Vista satelital de la planta Centenario (Google maps). Puntos de muestreo de agua tratada y cruda.

La planta Centenario se encuentra en la Carretera Panamericana, a la altura de la entrada del poblado de Pacora y fue inaugurada en el año 2004. El tratamiento del agua cruda empieza en la toma del río Pacora, donde mediante un desarenador se eliminan las partículas de mayor tamaño que flotan en el agua, arenas, gravas y materia orgánica. Luego el agua pasa al pozo de succión para ser transportada hacia la planta, donde se realiza el tratamiento convencional de potabilización, que incluye los procesos de floculación, sedimentación, filtración, almacenamiento, desinfección y por último el bombeo y distribución a la red (MIVIOT, 2016).

Toma de muestras

Puntos de muestreo:

-grifo de agua tratada. Coordenadas: 9°05'50.3"N 79°17'26.8"W

(UTM: 687839.97E 1006049.52N 17P)

-grifo de agua cruda. Coordenadas: 9°05'49.9"N 79°17'24.4"W

(UTM: 687915.197E1006042.685N 17P)

Las muestras de agua fueron recolectadas en envases de paredes lisas de 20 L de capacidad, con boca ancha, y tapa hermética. Se tomaron dos muestras de 20 L de agua tratada, a la salida de la planta y dos muestras de 10 L de agua cruda del río Pacora, que abastece a la Planta Potabilizadora Centenario.

Se tomaron muestras en tres meses de estación lluviosa y tres de estación seca, en septiembre, octubre, noviembre y enero, febrero y marzo respectivamente.

Durante la toma de la muestra se registraron parámetros físicos químicos tales como: pH, temperatura, conductividad, turbidez y sólidos disueltos totales (STD). En la muestra de agua tratada además de los parámetros antes mencionados, se midió también el cloro residual. Los envases se rotularon debidamente, y se realizó el llenado de la cadena de custodia de cada muestra.

Ya recolectadas las muestras fueron trasladadas en frío al Laboratorio de Biología, de la Sección de Control de Calidad de Agua Potable del IDAAN en Corozal, para ser procesadas.

Procesamiento de muestras

Las muestras se dejaron sedimentar por aproximadamente 20 hrs en las instalaciones del laboratorio, y se les decantó el 90% del volumen total de las muestras de agua tratada, y el 80% a las muestras de agua cruda. De esta manera se utilizaron 2 L de cada muestra, el cual fue dividido en 1 L de muestra para la metodología de Bailenger, y otro litro para la metodología de centrifugación-sedimentación (metodología de Ritchie modificada).

Método de Bailenger modificado

Se adoptó el Método de Bailenger modificado recomendado por la OMS, para agua superficial de río y agua tratada (Ayres & Duncan, 1997).

El restante de la muestra luego de la extracción, fue transferido a uno o más tubos de centrifugación, según el volumen, seguido se enjuagó el recipiente con solución Tween 80 al 0.1% y fue añadido al sedimento, y se centrifugó a 1000 r.p.m. durante 15 min.

El sobrenadante fue eliminado cuidadosamente. Al utilizar más de un tubo de centrifugación, el sedimento, fue transferido a uno solo y se volvió a centrifugar a 1000 r.p.m. durante 15 min, para luego decantar el sobrenadante.

Seguidamente el sedimento se suspendió en un volumen igual (1:1) de tampón de aceto acético, a pH 4.5. En caso de que el sedimento fuese menor de 2 ml se añadió tampón hasta 4 ml. Luego se le añadió el acetato de etilo al doble del tampón y se mezcló con la ayuda de un vortex.

Luego se centrifugó a 1000 r.p.m. durante 15 min. A este punto en la muestra se observan 3 fases distintas: el sedimento, tampón y el acetato de etilo (Fig. 2).

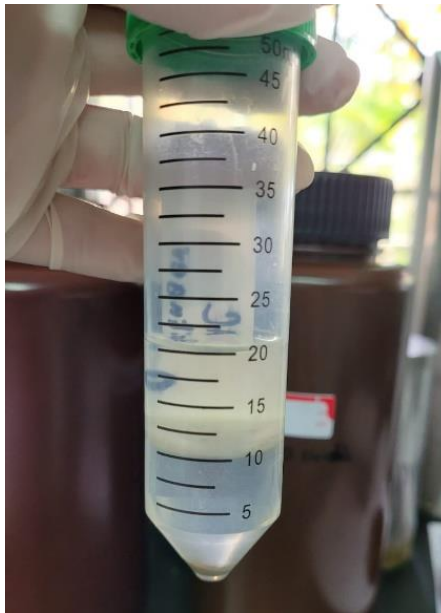


Fig. 2. Fases observadas en la metodología de Bailenger.

Se procedía a anotar el volumen de sedimento obtenido y se eliminaba el sobrenadante suavemente. Se volvía a suspender el sedimento a 5x de sulfato de zinc al 33% (densidad de 1.18).

Y se anotaba el volumen final. De este modo la muestra ya podía ser transferida a la cámara de conteo Sedgewick Rafter de 1 ml de capacidad y contar los huevos.

Para el cálculo de número total recuperado de la muestra se utiliza la siguiente fórmula:

$$N = (x/p) (v/m)$$

X= número de huevos

P= volumen del sedimento

V= volumen del sedimento más sulfato de zinc

M =volumen de la muestra (L)

Centrifugación-sedimentación con acetato de etilo

Adaptación de la metodología usada para análisis de muestras clínicas (método de Ritchie)

Se realizó el mismo proceso de sedimentación y decantación mencionado anteriormente, y se procedía con el procesamiento de la muestra. Se centrifugaba la muestra a 2,500 r.p.m. durante 10 minutos, y se descartaba el sobrenadante.

El sedimento restante se colocaba en un tubo de centrífuga de 50 ml, y se centrifugó a 2,500 r.p.m. durante un minuto. Se descartó el sobrenadante, y se añadía 3 ml de formalina (al 10%) al sedimento y se dejaba reposar durante 3 min.

Luego se añadía 3 ml de acetato de etilo, y se tapaba el tubo y se procedía a agitar en posición invertida por 30 segundos, luego se centrifugó a 1,500 r.p.m.

durante un minuto. A este punto se forman cuatro capas: la capa superior de acetato de etilo, la 2da capa de restos de partículas, 3ra capa de formalina y la capa inferior el sedimento con los parásitos (Fig 3).

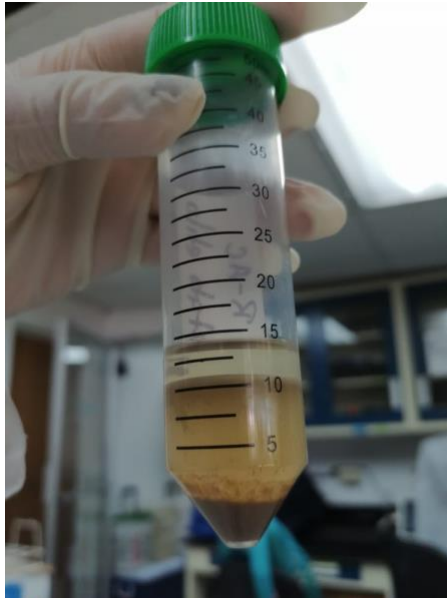


Fig. 3. Fases observadas en la metodología de sedimentación-centrifugación.

Seguidamente se procedía a retirar la tres primeras capas con cuidado y se mezclaba el sedimento con gotas de formalina al 10%, para finalmente observar la muestra en el microscopio.

Examen directo

Para la búsqueda de huevos y/o larvas de helmintos se examinó el sedimento realizando réplicas en diferentes portaobjetos, hasta 3 réplicas o hasta agotar el sedimento, se colocaba una gota de Lugol en el centro del portaobjetos y a esta se le agregaba un pequeño volumen de la muestra y se le colocaba el

cubreobjetos para observar bajo el microscopio con los objetivos de 10x y 40x para la visualización de huevos y/o larvas de helmintos.

Análisis estadístico

Los resultados fueron evaluados estadísticamente utilizando la prueba Diversity t test en base al índice de diversidad de Shannon, e individual rarefaction, ambos utilizando el programa Past3.

RESULTADOS

RESULTADOS

Como vemos en el Cuadro 1, en total se encontraron 72 larvas de helmintos, de 24 géneros distintos, pertenecientes a 11 órdenes y 21 familias del Phylum Nematoda.

Cuadro 1. Taxonomía de los géneros de larvas encontrados en el estudio.

Orden	Familia	Género
Adenophorea	Araeolaimida	<i>Leptolaimus</i>
	Chromadorida	<i>Monochromadora</i>
Aphelenchida	Seinuridae	<i>Seinura</i>
Araeolaimida	Rhabdolaimidae	<i>Rhabdolaimus</i>
Cromadorea	Aphanolaimoidea	<i>Paraphanolaimus</i>
	Cylindrocorporidae	<i>Cylindrocorpus</i>
Dorylaimida	Aulolaimoididae	<i>Aulolaimoides</i>
	Longidoridae	<i>Xiphinema</i>
Enoplea	Mononchulidae	<i>Oionchus</i>
Enoplida	Alaimidae	<i>Alaimus</i>
		<i>Amphidelus</i>
Mononchida	Anatonchidae	<i>Anatonchus</i>
		<i>Iotonchus</i>
	Cryptonchidae	<i>Cryptonchus</i>
	Mononchidae	<i>Mononchus</i>
Rhabditida	Ancylostomidae	<i>Uncinaria</i>

	Cephalobidae	<i>Cephalobus</i>
		<i>Eucephalobus</i>
	Neodiplogastridae	<i>Mononchoides</i>
	Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus</i>
	Rhabditidae	<i>Rhabditis</i>
	Strongyloididae	<i>Strongyloides</i>
Triplonchida	Prismatolaimidae	<i>Prismatolaimus</i>
Tylenchyda	Anguinidae	<i>Nothotylenchus</i>

También se obtuvieron 2 huevos de helmintos, ambos en muestras de agua cruda. Un huevo clasificado como *Kalicephalus* sp. obtenido en noviembre 2021 por el método de Baillenger; y un huevo tipo Ascarideo en febrero 2022 por el método de centrifugación-sedimentación.

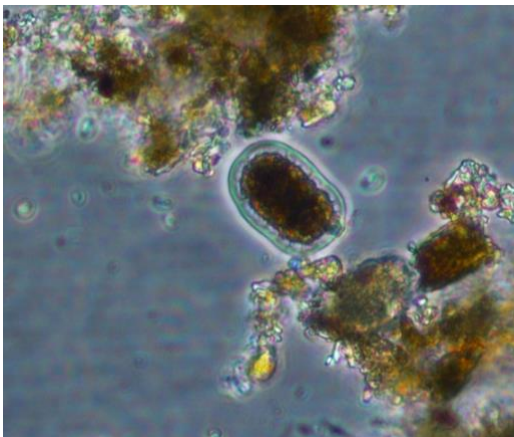


Fig. 4. Huevo de *Kalicephalus*, 20x.



Fig. 5. Huevo tipo Ascarideo 40x.

El huevo de *Kalicephalus* sp. al ser reportado por el método de Bailenger, corresponde utilizar la formula, $N = (x/p) (v/m)$, de cálculo del número total de huevos/L.

$$N = (1/0.5) (3/10)$$

$$N = 0.6 \text{ huevos/L}$$

Prevalencia por época lluviosa y seca

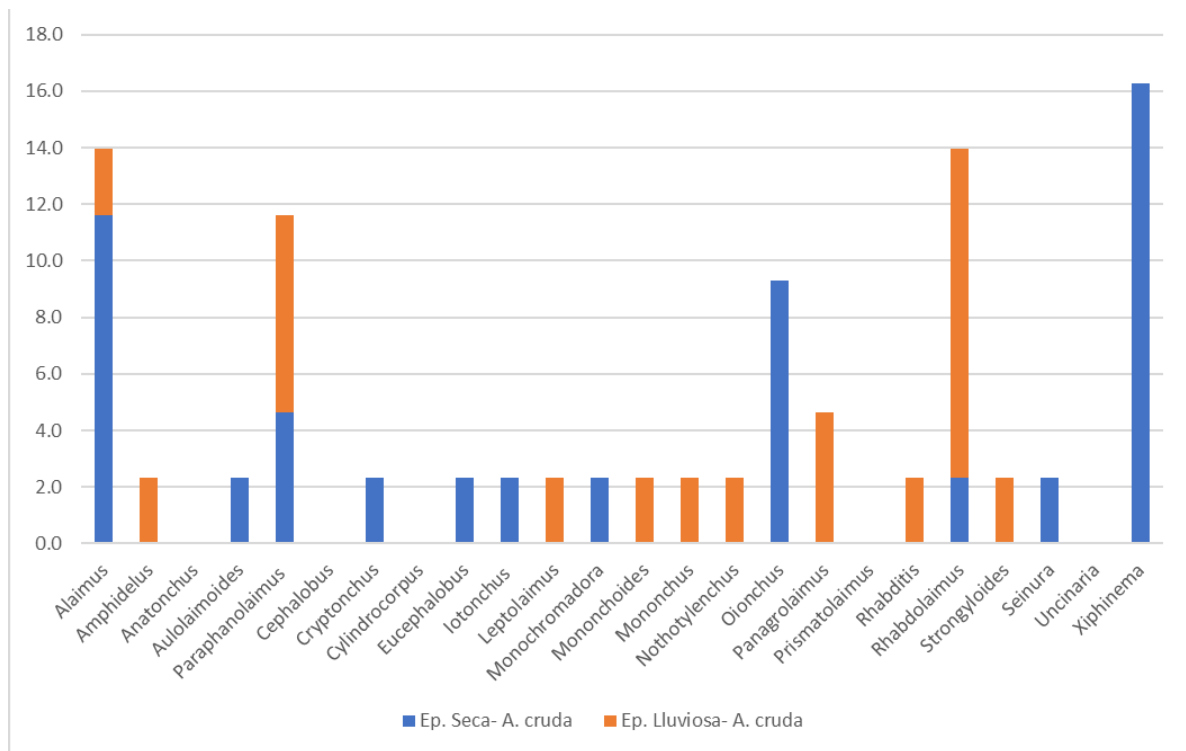


Fig. 6. Larvas de helmintos encontradas en agua cruda por época de muestreo.

Del total de 72 larvas de nematodos encontrados el 59.7% fueron encontradas en el agua cruda (43), y el 40.3% en el agua tratada (29). La mayor prevalencia en el agua cruda fue representada por el género *Xiphinema* (16.3%), seguida de *Alaimus* (11.6%) durante la época seca. Sin embargo, durante la época lluviosa la

mayor prevalencia fue por *Rhabdolaimus* (11.6%), seguidamente de *Paraphanolaimus* (7%).

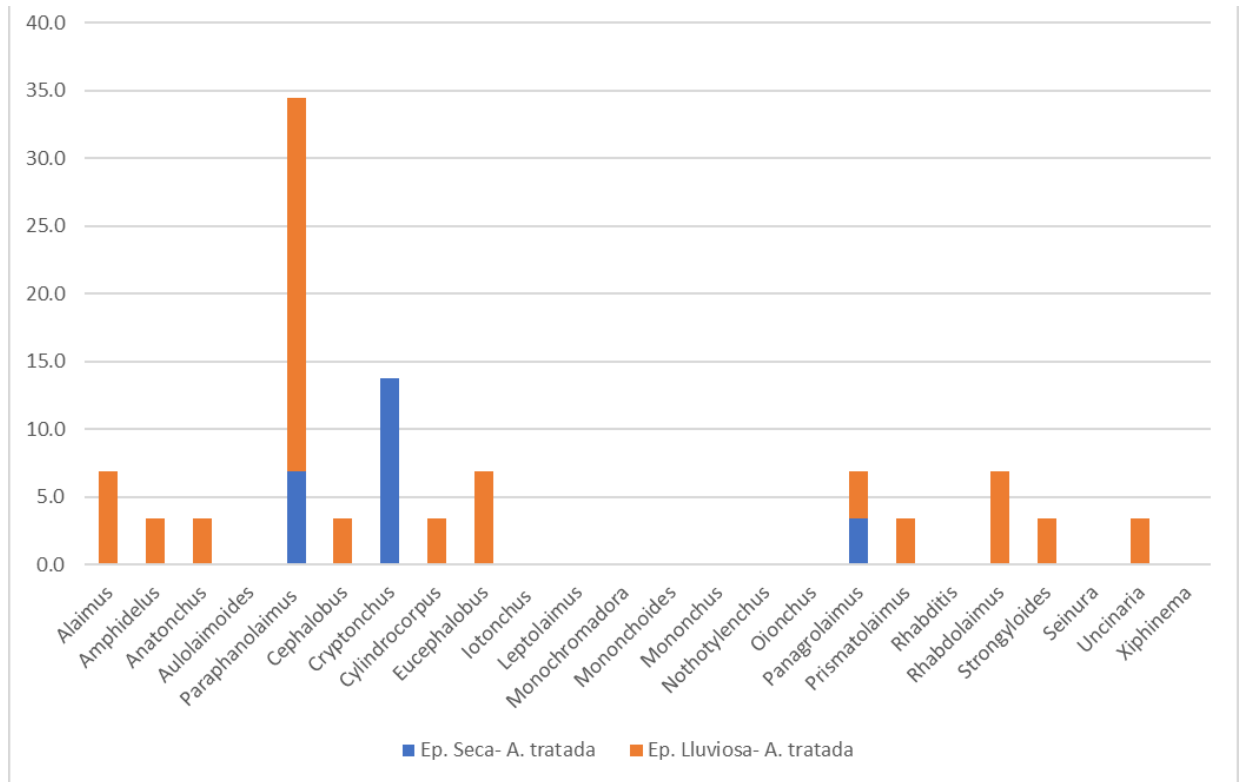


Fig. 7. Larvas de helmintos encontradas en agua tratada por época de muestreo.

Por otro lado, en el agua tratada durante la época lluviosa, la mayor prevalencia fue por *Paraphanolaimus* (27.6%). Y durante la época seca es importante recalcar que solo fueron observados tres géneros de larvas *Cryptonchus* (13.8%), *Paraphanolaimus* (6.9%) y *Panagrolaimus* (3.4%).

Prevalencia por mes

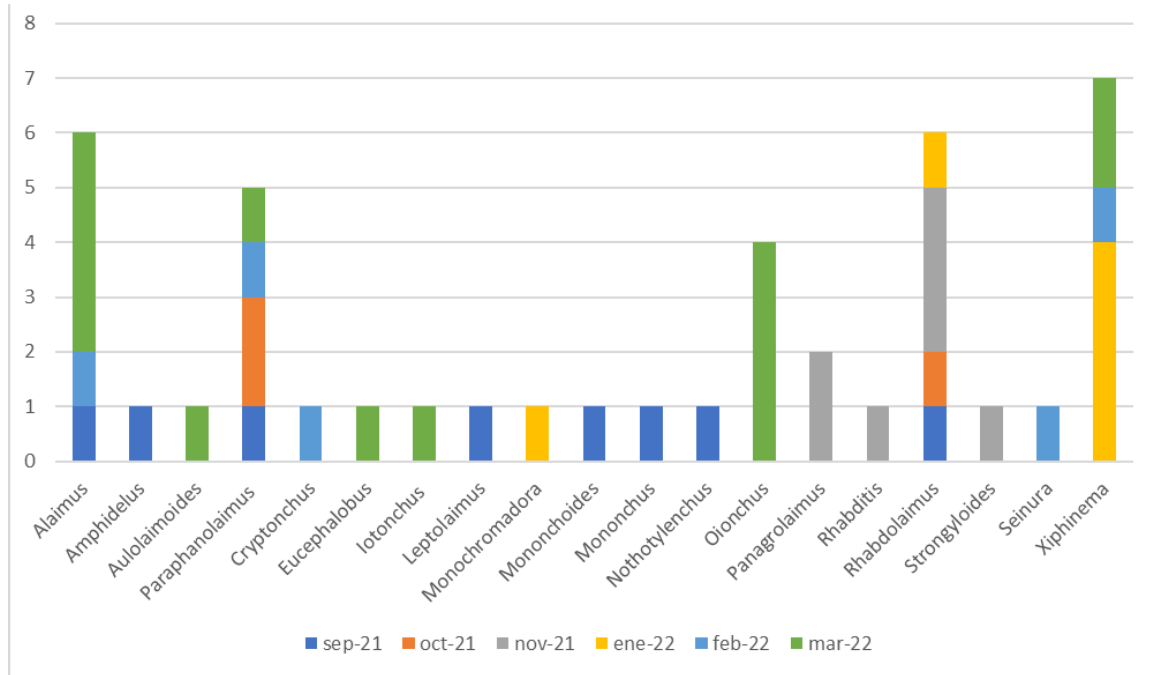


Fig. 8. Prevalencia de larvas de helmintos encontradas en agua cruda por mes de muestreo.

Agua cruda:

En el agua cruda destaca durante la época seca el género *Xiphinema* (28.6%) en el mes de enero con la mayor prevalencia, y en el mes de marzo *Oionchus* y *Alaimus* (ambos con 28.6%). En el mes de noviembre la mayor prevalencia fue por *Rhabdolaimus* (42.8%), y en el mes de octubre por su parte solo se observaron larvas de *Paraphanolaimus* (66.7%) y *Rhabdolaimus* (33.3%).

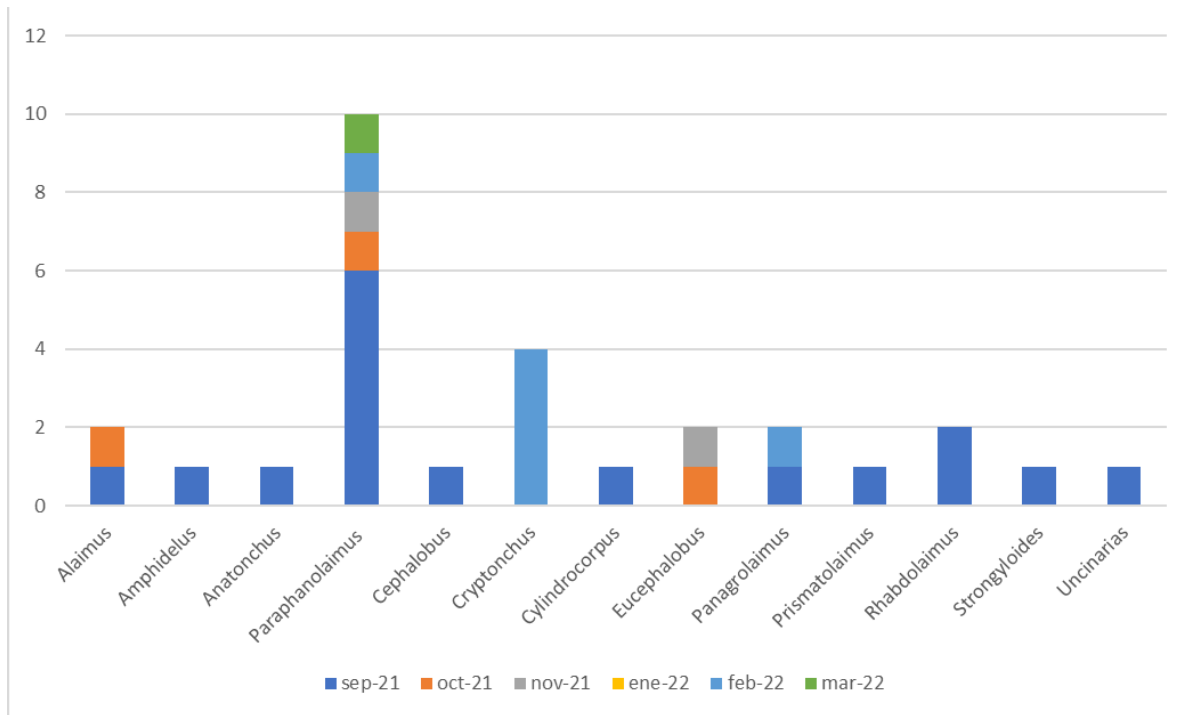


Fig. 9. Prevalencia de larvas de helmintos encontradas en el agua tratada por mes de muestreo.

Agua tratada:

En total durante el mes de septiembre se encontraron 17 larvas de 11 géneros distintos, siendo *Paraphanolaimus* (35.3%) el de mayor prevalencia en agua tratada. Sin embargo, en febrero, la mayor prevalencia fue por *Cryptonchus* (66.7%). En los meses de octubre y siguientes se observó una menor frecuencia total de larvas, siendo incluso, que en el mes de enero no se observó larvas o huevos de helmintos, y en el mes de marzo solo se 1 larva del género *Paraphanolaimus*.

Prueba Diversity t test

No se encontraron diferencias significativas para las metodologías utilizadas, dando como resultado que durante la época lluviosa por el método de Bailenger se obtuvo una p : 0.2734, para el mismo método durante la época seca una p :0.0964.

En cuanto a la época lluviosa por el método de sedimentación-centrifugación se obtuvo una p : 0.6533, y para el mismo método durante época seca se obtuvo una p :0.0723.

Cuadro 2. Contingencia de resultados de la prueba Diversity t test para los métodos de Bailenger y sedimentación-centrifugación.

<i>Método</i>	Bailenger				Sedimentación-centrifugación			
	LL/AC	LL/AT	S/AC	S/AT	LL/AC	LL/AT	S/AC	S/AT
Época/Muestra								
H'	1.5607	1.9913	1.3031	0.67301	1.9073	1.7479	1.7153	0.69315
p	0.2734		0.096416		0.65333		0.072278	

LL: época lluviosa, S: época seca, AT: agua tratada, AC: agua cruda. H': índice de Shannon

La prueba Diversity t test estableció por el índice de Shannon que durante la época seca se observa mayor diversidad en agua cruda, con un índice de H: 2.0749 que, en el agua tratada, H: 0.9557.

Por otro lado, durante la época lluviosa ambas muestras, tanto agua tratada (H: 2.1458) como agua cruda (H: 2.1832) muestran una alta diversidad.

Sin embargo, para esta misma prueba, la muestra de agua tratada muestra una diferencia altamente significativa entre épocas ($p:0.001567$), mientras que las muestras de agua cruda entre época lluviosa y seca no muestra diferencias significativas ($p:0.69339$).

Cuadro 3. Contingencia de resultados de las pruebas de Diversity t test para agua cruda y agua tratada.

<i>Muestra</i>	Agua cruda		Agua tratada	
	Época seca	Época lluviosa	Época seca	Época lluviosa
H'	2.0749	2.1832	0.9557	2.1458
p	0.69339		0.001567	

H': Índice de Shannon

Individual rarefaction

Utilizando el individual rarefaction se obtiene que el agua tratada tiene mayor riqueza en época lluviosa que en época seca. Por el contrario, el agua cruda muestra mayor riqueza en época seca que en la época lluviosa.

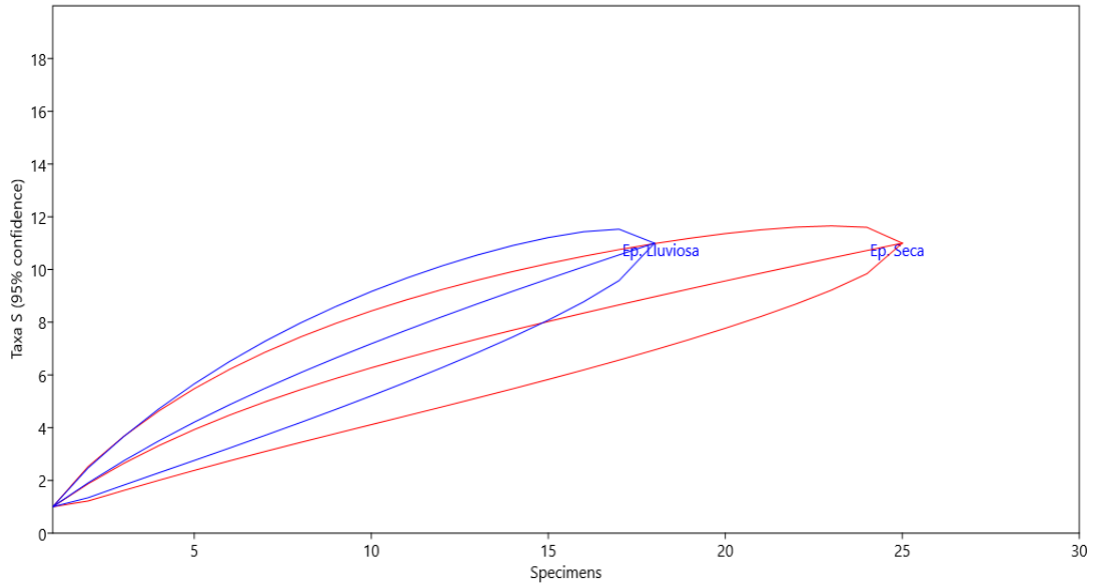


Fig. 10. Individual rarefaction para el agua cruda durante época seca vs época lluviosa.

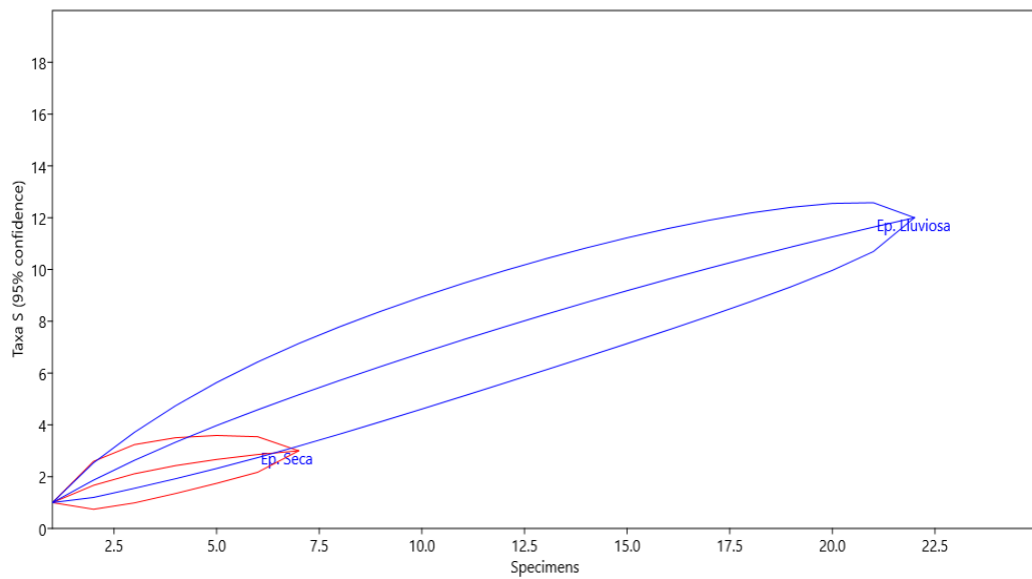


Fig. 11. Individual rarefaction para el agua tratada durante época seca vs época lluviosa.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Los helmintos encontrados en aguas fueron diversos y, especialmente en la época lluviosa, muy diversos. La mayoría de los helmintos encontrados estaban en su etapa juvenil (larvas) y sólo se encontraron 2 huevos de nematodos.

Huevos encontrados

El huevo reportado con morfotipo muy parecido a *Kalicephalus* sp. fue encontrado en agua cruda en el mes de noviembre. *Kalicephalus* se encuentra en muchas especies de reptiles, especialmente en serpientes y ocasionalmente en lagartijas (Valolahti, 2022; Barton & Jones, 2018). Sus huevos son de cáscara fina que en su estado de mórula se desarrollan rápidamente en las heces a su estado de blástula (Matt et al. 2020). Estos huevos salen al ambiente con las heces del hospedador, luego eclosionan y se convierten en larvas de tercer estadio en el medio ambiente (Golin, 2020).

Otro huevo encontrado en las muestras de agua fue el tipo ascarideo, en agua cruda en el mes de febrero. Este huevo es de alta resistencia a las condiciones climáticas, por lo que no es de extrañar que se encontrara. Otro factor importante es que el punto de toma de agua cruda del Río Pacora tiene una baja altitud (10m), factor que puede favorecer a la acumulación de huevos en estas zonas, por las escorrentías de las aguas (Yaro et al. 2018). En todos los casos, y debido a que su resistencia ambiental es alta, la larva del nematodo puede formarse hasta su estado infectante.

Como ya se ha mencionado, en las aguas de consumo se espera no encontrar ni un solo huevo de helminto (OMS, 2006). Sabemos que el reporte de ambos huevos en este estudio, se da en aguas crudas, pero aun así se reconoce la existencia de un riesgo potencial a la salud humana o de animales domésticos.

Estas aguas son utilizadas como balneario, y durante las actividades de esparcimiento realizadas, se puede ingerir las aguas en forma involuntaria, causando nuevos parasitismos a la población humana (Amoah et al., 2018). Las aguas también pueden ser ingeridas por los animales domésticos desmejorando la salud de los mismos y afectando a la economía del productor, debido al efecto negativo que causa en la baja productividad en el animal (Reyes et al., 2021).

Prueba Diversity t test

Al evaluar la efectividad del método de Bailenger y el método de sedimentación-centrifugación, se aplicó la prueba de diversity t test y los resultados fueron no significativos. Este resultado también fue reportado por Trabelsi et al, 2018, donde se comparó dichas técnicas de concentración para el diagnóstico de parásitos intestinales, por esta razón se tomaron en cuenta únicamente el tipo de muestra y época de muestreo.

Las mayores diversidades de larvas encontradas fueron durante la época lluviosa, tanto en agua cruda como en agua tratada. En la época seca, similar a lo reportado en un estudio en el estado de Acre en el bioma amazónico, la diversidad fue menor (Cavalcante et al., 2020).

Agua cruda

En el agua cruda la mayor prevalencia se observa en el mes de marzo, seguidamente del mes de septiembre. Ambos meses reportaron los menores valores de turbiedad, sin embargo, en el mes de septiembre la precipitación fue de 422.4 mm, y en marzo tan solo de 33.9 mm, factor vinculado a la turbidez que favorece el aumento de las larvas de helmintos (Khan et al., 2021).

Sin embargo, en el mes de enero se destaca la alta prevalencia del género *Xiphinema* ssp. (28.6%). Además, fue observada únicamente en muestras de agua cruda durante toda la época seca, siendo así, que representa la mayor prevalencia en la época seca.

El género *Xiphinema* ssp. pertenece a un grupo de nematodos fitoparásitos, especialmente, denominados ectoparásitos migratorios de la raíz (Cobb, 1913). Los daños causados pueden determinar menores rendimientos y hasta la muerte de las plantas. Sus plantas hospederas incluyen una amplia gama de plantas herbáceas y leñosas (Herrera, 2022; Jahanshahi et al., 2021).

Se ha estudiado ampliamente aspectos sobre su taxonomía, biología y coevolución con las bacterias endosimbiontes, su asociación con virus fitopatógenos y su parasitismo en las raíces de las plantas huésped (Mobasserri et al., 2019; Garcia et al., 2019; Al-ameiri, 2022).

Por otro lado, la mayor prevalencia durante época lluviosa fue por el género *Rhabdolaimus* sp. (11.6%). Se ha evidenciado que es abundante en el fondo de arena y limo de estuarios. Este género de nematodo también se ha reportado en

hábitats levemente contaminados o gravemente contaminados, por lo que es considerado como un bioindicador confiable para monitorear la contaminación de ríos (Nguyen et al., 2022^b; Wu et al., 2010).

Además, fue reportado como un género subdominante en el embalse Tri An (sureste de Vietnam), en el mes de marzo (época poco lluviosa), también se menciona que es un indicador de condiciones de enriquecimiento orgánico (Tran et al., 2020).

Agua tratada

En el agua tratada sobresale *Paraphanolaimus* sp. (27.6%), este mismo también ha sido reportado en muestras de culantro en la comunidad del Majara, Capira. También, se reportaron nematodos de vida libre, como *Strongyloides* sp., *Amphidelus* sp, y *Panagrolaimus* sp., que muy posiblemente fueron procedentes de la fuente de agua de irrigación, sin embargo, no se registraron en las muestras de agua procesadas en el mismo estudio (González et al., 2018).

En un estudio en Japón, por Okada & Niwa, 2014, *Paraphanolaimus* se le ha sugerido como característico de la fauna de nematodos de arrozal, donde se encuentra permanentemente sumergido durante un año. También, se ha reportado como nematodo de agua dulce, incluyendo agua estancada y corriente. (Milovankina et al., 2018, Girgan et al., 2021).

Durante la época seca en agua tratada, solo se reportaron, géneros de *Paraphanolaimus* sp., *Panagrolaimus* sp. y *Cryptonchus* sp., los dos primeros

fueron también reportados durante la época lluviosa en agua tratada, con mayor e igual prevalencia, que en la época seca.

El hecho de que dichas larvas se reportaran en agua tratada, puede deberse a que estas traspasan las barreras de potabilización de la planta de tratamiento, ya que estas también fueron observadas en el agua cruda durante la época seca, a excepción de *Panagrolaimus* sp.

Por otro lado, durante el mes de septiembre, se reportaron 5 géneros de larvas, únicamente en agua tratada. Lo más probable que el factor contaminante sean las escorrentías por las lluvias dadas en este mes (422.4 mm) estas pueden arrastrar las larvas, y tomando en cuenta que las muestras fueron tomadas directamente de un grifo, el sistema de distribución podría tener alguna ruptura permitiendo el paso de las larvas (Hamza et al., 2022).

Factores fisicoquímicos que afectan el desarrollo de las larvas en el ambiente

Durante el mes de septiembre se observa la mayor prevalencia de larvas en agua tratada. En este mes también se reportaron los niveles más bajos de sólidos totales disueltos, salinidad y conductividad (Cuadro 5). Se ha reportado en lodos que dichos parámetros fisicoquímicos, no tuvieron efecto sobre la concentración de helmintos, pero no se debe descartar la posibilidad de que, en este estudio, los niveles bajos de STD, salinidad y conductividad proporcionen mayor viabilidad a las larvas de vida libre encontradas (Letah et al., 2016).

En cuanto a salinidad, se dice que, si en el ambiente esta es alta, el tiempo de vida de las larvas de vida libre se puede reducir, algo contrario a lo observado en este estudio, donde posiblemente la baja salinidad en muestra de agua tratada puede beneficiar su desarrollo (Allalguia et al., 2021).



Fig. 12. Puertas oxidadas y a la intemperie de tanque de almacenamiento de la Planta Potabilizadora Centenario de Pacora.

Otro factor que puede influenciar en la alta diversidad de larvas encontradas en agua tratada, podría ser que, durante el tiempo de toma de las muestras, el tanque de almacenamiento tenía aproximadamente 4 años sin ser limpiado, lo que podría generar que el agua no utilizada totalmente, proporcione factores al tanque de almacenamiento como agua estancada, proporcionando mayor riqueza de helmintos. De esta manera, al pasar por el sistema de distribución del agua se vuelve ineficiente (Chikhlyayev & Ruchin, 2020).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Se reportó una gran diversidad de larvas de helmintos de vida libre presentes tanto en aguas crudas como en aguas tratadas en la Planta Potabilizadora Centenario de Pacora.
- No se reportaron huevos de helmintos enteroparásitos en el agua tratada, pero si larvas de vida libre de *Strongyloides* sp. y del grupo uncinarias, que pueden llegar representar peligro para la salud humana.
- El hecho de encontrar una alta diversidad de larvas de vida libre en agua tratada de la potabilizadora es alarmante, debido a que esto implica que larvas entoropárasitas, y también huevos de helmintos podrían pasar las diversas barreras de potabilización del agua cruda y causar enfermedades a la ciudadanía que la consume.
- El agua cruda reportó mayor diversidad de larvas de helmintos que el agua tratada, ambas muestras a su vez reportaron mayor diversidad durante la época lluviosa.
- La mayor prevalencia en agua tratada fue por *Paraphanolaimus* sp., en el mes de septiembre.
- Para el agua cruda la mayor prevalencia fue por *Xiphinema* sp, larva ectoparásita de diversas plantas en la agricultura.
- No se encontró diferencias significativas en la diversidad de helmintos reportada para las metodologías de Bailenger y sedimentación-centrifugación utilizadas en el estudio.

RECOMENDACIONES

- Realizar más de un muestreo al mes para obtener mayor cantidad de datos.
- Escoger un solo método de concentración para ahorrar tiempo y espacio en laboratorio, sabiendo que ambos métodos no tienen diferencias significativas en cuanto a la diversidad de helmintos encontrados.
- Dar seguimiento a la diversidad de helmintos encontrados en agua tratada, buscando la solución óptima para el mejoramiento de esta, siendo que sea consumible sin reportar ejemplar alguno de larva o huevo de helminto.
- Contar con la posibilidad de realizar toma de muestras directamente de la toma de agua cruda en Río Pacora.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

AKELMA, H., & KARAHAN, Z. A. 2019. Rare chemical burns: review of the literature. *Int. Wound J.*, 16(6), 1330-1338.

ALLALGUA, A., MENASRIA, A., MOUAISSIA, W., BENSOUILAH, M., & KAOUACHI, N. 2021. Effect of biotic and abiotic factors on the epidemiological index of *Dactylogyrus heteromorphus* El Gharbi, 1994 (Monogenea) parasitizing the Algerian Barbel *Luciobarbus callensis* (Cyprinidae) inhabiting Foum-EI-Khanga Dam (Souk-Ahras, Algeria). *Acta Aquat. Turc.*, 17(4), 532-540.

ALMASCO, A., YABUT, A., ZAMORA, M., ALVAREZ, L., MAPANAO, C., RENDON, A., ZURBANO, L., BELLERE, A., ZAMORA, A., ALVAREZ, M., MAPANAO, L., RENDON, C., ZURBANO, A & BELLERE, L. 2021. Morphological identification of plant parasitic nematodes found in roots and soil of pomelo (*Citrus maxima* (J. Burm.) Merr.). 17. 1273-1286.

AL-AMEIRI, N. S. M. 2022. Survey of Plant-Parasitic Nematodes in Jerash Province of Jordan. <https://www.researchsquare.com/article/rs-2138557/v1>

AMOAHA ID, SINGH G, STENSTROM TA, REDDY P. 2017. Detection and quantification of soil-transmitted helminths in environmental samples: a review of current state-of-the-art and future perspectives. *Acta Trop.*;169:187–201.

AMOAHA, I. D., REDDY, P., SEIDU, R., & STENSTRÖM, T. A. 2018. Removal of helminth eggs by centralized and decentralized wastewater treatment plants in South Africa and Lesotho: health implications for direct and indirect exposure to the effluents. *Environ Sci Pollut Res*, 25(13), 12883-12895.

AYRES, R.M; DUNCAN, M. 1997. Análisis de aguas residuales para su uso en agricultura: manual de técnicas parasitológicas y bacteriológicas de laboratorio. Organización Mundial de la Salud. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41996/9243544845_spa.pdf. Visitado el 26 de julio de 2021.

BAIRD, R. & BRIDGEWATER, L. 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, D.C: American Public Health Association. 23rd ed. pp: 10-106.

BARTON, D. P., & JONES, H. I. 2018. Nematodes from northern Australian reptiles. *North. Territ. Nat*, 28, [43]–60.

BHURE, D.B., SHAIKH, K., NANWARE S.S. 2022. Helminths: taxonomic characteristics and protocols of helminth taxonomy. *Sustain. Dev for Soc., Ind.* Vol. 2. p. 104.

BRUSA, F.; LEAL-ZANCHET, A.; NOREÑA, C.; DAMBORENEA, C. 2020. Chapter 5 - Phylum Platyhelminthes. Editor(s): D. Christopher Rogers, Cristina Damborenea, James Thorp. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates (Fourth Edition). Academic Press. pp 101-120.

CAMPOS, C.; BELTRÁN, M.; FUENTES, N; MORENO, G. 2018. Huevos de helmintos como indicadores de contaminación de origen fecal en aguas de riego agrícola, biosólidos, suelos y pastos. *Biomédica*. 38: 42-53.

CAVALCANTE, P.H., DA SILVA, M.T., PEREIRA, A. GENTILE, R., PORTES, C. 2020. Helminth diversity in *Pimelodus blochii* Valenciennes, 1840 (Osteichthyes: Pimelodidae) in two Amazon Rivers. *Parasitol Res* 119, 4005–4015.

CHAOUA, S.; BOUSSAA, S.; KHADRA, A.; BOUMEZZOUGH, A. 2018. Efficiency of two sewage treatment systems (activated sludge and natural lagoons) for helminth egg removal in Morocco. *J. Infect. Public Health*, 11:2. 197-202.

CHÁVEZ V, MOHRI-SHIOMI A, MAADANI A, VEGA LA, GARSIN DA. 2007. Oxidative stress enzymes are required for DAF-16-mediated immunity due to generation of reactive oxygen species by *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 176:1567-1577.

CHIKHLYAEV, I. V., & RUCHIN, A. B. 2020. Helminths of amphibians (Amphibia) in beaver ponds in the Central Russia. *Aquac Aquar Conserv Legis*, 13(6), 3810-3821.

COBB, N. A. 1913. New nematode genera found inhabiting fresh water and non-brackish soils. *J. Wash. Acad. Sci.*, 3, 432–444.

CROOK, M. 2014. The Dauer hypothesis and the evolution of parasitism: 20 years on and still going strong. *Int. J. Parasitol.* 44: 1–8.

CUI, J., LIU, S., XUE, H., WANG, X., HAO, Z., LIU, R., SHANG, W., ZHAO, D & DING, H. 2021. Catalytic ozonation of volatile organic compounds (ethyl acetate) at normal temperature. *Chin. J. Chem. Eng.*, 32, 159-167.

DICKSON D.D., DANIEL O.G., ROBERT W. G., PETER J.H., CHARLES A.K. 2017. Parasitic Diseases. 6ta ed. Parasites Without Borders, Inc. NY. pp 199, 329, 389.

DUNNICK, J. K., PANDIRI, A. R., MERRICK, B. A., KISSLING, G. E., CUNNY, H., MUTLU, E., WAIDYANATHA, S., SILLS, R., HONG, HL., TON, TV., MAYNOR, T., RECIO, L., PHILLIPS, S.L., DEVITO, MJ. & BRIX, A. 2018. Carcinogenic activity of pentabrominated diphenyl ether mixture (DE-71) in rats and mice. *Toxicol. Rep.*, 5, 615-624.

GOLIN, F. 2020. La familia Diaphanocephalidae (Nematoda, Strongylida) en reptiles de Uruguay. Tesis Doctoral. Universidad de la República.

GALLEGO, L.; GONZÁLEZ, M.; GUILLÉN A.; SUÁREZ, B.; SALAZAR, J.; HERNÁNDEZ, T.; NARANJO, M.; HEREDIA, H. 2012. Helmintos intestinales en agua de consumo humano. Aragua, Venezuela. *MedULA* 21(2): 87-92.

GARCIA, S., HILY, J. M., KOMAR, V., GERTZ, C., DEMANGEAT, G., LEMAIRE, O., & VIGNE, E. 2019. Detection of multiple variants of grapevine fanleaf virus in single *Xiphinema index* nematodes. *Viruses*, 11(12), 1139.

GASPARD, P; SCHWARTZBROD, J. 1993. Determination of the parasitic contamination of irrigated vegetables. *Water Sci Technol*, 27: 295-302.

GIRGAN, C., SHOKOOHI, E., MARAIS, M., FOURIE, H., TIEDT, L., & SWART, A. 2021. Description of *Ironus telperionensis* n. sp. (Nematoda: Ironidae) and two known species of *Chronogaster* (Nematoda: Chronogastridae) and *Paraphanolaimus* (Nematoda: Aphanolaimidae) from the Telperion Nature Reserve (Mpumalanga, South Africa). *Nematology*, 23(8), 939-961.

GONZÁLEZ, K; RIVAS, R. E. & SANDOVAL, N. 2018. Aguas, suelos y hortalizas como fuente potencial de enteroparásitos en niños de la Escuela Majara, Capira. *Tecnociencia* 20(1): 5-26.

HAAG, E., FITCH, D., DELATTRE, M. 2018. From "the worm" to "the worms" and back again: the evolutionary developmental biology of nematodes, *Genetics*, 210(2):397–433.

HAMZA, A., MBAYA, A. W., NWOSU, C. O., NWANKWO, E., & LUKA, J. 2022. Prevalence of intestinal and urinary helminth parasite infections among residents of communities around Lake Alau, Maiduguri. *SJVS*, 19(3), 14-19.

HERRERA, M. E. 2022. Nematodo de la vida o nematodo daga *Xiphinema* spp.

JAHANSHAHI AFSHAR, F., PEDRAM, M., & MOBASSERI, M. 2021. Description of *Xiphinema persicum* n. sp. (Nematoda: Longidoridae), a *X. americanum*-group species from Iran. *Eur. J. Plant Pathol.*, 159(4), 783–797.

JUÁREZ, Y.; SANDOVAL, N. 2021. Prevalencia parasitaria en diferentes fuentes de aguas de las comunidades del río Chagres en los años 2010-2019. *Crea Ciencia*. 13(2): 24 – 32.

JOSHI, D. R., & ADHIKARI, N. 2019. An overview on common organic solvents and their toxicity. *J. Pharm. Res. Int*, 28(3), 1-18.

- KHALIL, A., PARKER, M., BROWN, S. E., CEVIK, S. E., GUO, L. W., JENSEN, J., OLMSTED, A., PORTMAN, D., WU, H. & SUVOROV, A. 2017. Perinatal exposure to 2, 2', 4' 4'- Tetrabromodiphenyl ether induces testicular toxicity in adult rats. *Toxicology*, 389, 21-30.
- KHAN, S. A., ANSARI, F., ASLAM, S., HUSSAIN, A., HUSSAIN, M., MAHMOOD, M., MUHAMMAD, A., MUHAMMAD, A., ALI, R., ASLAM, A. & ALI, F. 2021. Prevalence of helminths in the intestine and fecal material of infested chicken in district malakand of Pakistan. *Biologia Pakistan*, 67 (II): 102-106.
- KHURANA S, SINGH S, MEWARA A. 2021. Diagnostic Techniques for Soil-Transmitted Helminths - Recent Advances. *Res Rep Trop Med*. 4;12:181-196.
- KREUZINGER-JANIK, B., KRUSCHA, S., MAJDI, N., & TRAUNSPURGER, W. 2018. Flatworms like it round: nematode consumption by *Planaria torva* (Müller 1774) and *Polycelis tenuis* (Ijima 1884). *Hydrobiologia*, 819(1), 231–242.
- KUMAR, T., MAJID, M. A. A., ONICHANDRAN, S., JATURAS, N., ANDIAPPAN, H., SALIBAY, C. C., & PHIRIYASAMITH, S. 2016. Presence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in water samples from Southeast Asia: towards an integrated water detection system. *Infect. Dis. Poverty*, 5(1), 3.
- LAMPLUGH, A., HARRIES, M., XIANG, F., TRINH, J., HECOBAN, A., & MONTOYA, L. D. 2019. Occupational exposure to volatile organic compounds and health risks in Colorado nail salons. *Environ. Pollut.*, 249, 518-526.
- LETAH NZOUEBET, W. A., KENGNE NOUMSI, I. M., & RECHENBURG, A. 2016. Prevalence and diversity of intestinal helminth eggs in pit latrine sludge of a tropical urban area. *J. Water Sanit. Hyg. Dev.*, 6(4), 622-630.
- MAMANI, L. 2012. Presencia de protozoarios y helmintos en agua de consumo humano de la Región Moquegua. Tesis de pregrado Biólogo-Microbiólogo. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.
- MATT, C. L.; NAGAMORI, Y.; STAYTON, E. & BRANDÃO, J. 2020. *Kalicephalus* hookworm infection in four corn snakes (*Pantherophis guttatus*). *J. Exot. Pet Med*. 34. 62-66.
- MAYA, C; TORNER, F; LUCARIO, E; HERNÁNDEZ, E; JIMÉNEZ, B. 2012. Viability of six species of larval and non-larval helminth eggs for different conditions of temperature, pH and dryness. *Water Res*, 46: 4770-4782.
- MILOVANKINA, A. A., FADEEVA, N. P., & CHERTOPRUD, E. S. 2018. Salinity gradient meiobenthos distribution on the Razdolnaya River's estuary. *Samara J. Sci.*, 7(1), 76-83.

MIVIOT. Ministerio de Vivienda y Ordenamiento Territorial. 2016. Diagnóstico estratégico de la situación existente. Informe 2(2). pp 427-429.

MOBASSERI M, HUTCHINSON MC, AFSHAR FJ, PEDRAM M. 2019. New evidence of nematode-endosymbiont bacteria coevolution based on one new and one known dagger nematode species of *Xiphinema americanum*-group (Nematoda, Longidoridae). *PLoS One*. 26;14(6).

MORA-BARRANTES, J. C., MORERA, L., ULATE-SALAS, M., NÚÑEZ-AGÜERO, V., ACUÑA-SALAZAR, E., & CORDERO-CARVAJAL, M. 2021. Chemical risk classification of organic solvents by using the “CHEM21 selection guide of classical-and less classical-solvents”. *Tecnol. Marcha*, 35(1): 28-43, 2215-3241, 0379-3982.

^aNGUYEN, T. H., DORNY, P., NGUYEN, T. T. G., & DERMAUW, V. 2021. Helminth infections in fish in Vietnam: A systematic review. *IJP-PAW*, 14, 13-32.

^bNGUYEN, M. Y., THAI, T. T., QUANG, N. X., DONG, N. X., THAO, N. T. P., VEETIL, B. K., VANREUSEL, A. & LAM, N. N. 2022. The habitat preferences of nematode assemblages in relation to the sediment granulometry in the Ba Lai estuary, Vietnam. *Reg. Stud. Mar. Sci*, 56, 102641.

NIELSEN, GD., LARSEN, ST., WOLKOFF, P. 2017. Re-evaluation of the WHO (2010) formaldehyde indoor air quality guideline for cancer risk assessment. *Arch Toxicol* 91:35–61.

OKADA, H. AND S. NIWA. 2014. Nematode fauna of a permanently submerged paddy field. *J. Nematol.*, 46(2), 130–260.

OMS. Organización Mundial de la Salud. 2006. Guías para la calidad del agua potable. 3ra edición. Vol. 1: Recomendaciones. https://sswm.info/sites/default/files/reference_attachments/OMS%202006.%20Gu%C3%ADa%20para%20la%20calidad%20del%20agua%20potable.pdf Visitado el 7 de julio 2021.

OYARZÚN-RUIZ, P., & GONZÁLEZ-ACUÑA, D. 2022. Current knowledge of trematodes (Platyhelminthes: Digenea, Aspidogastrea) in Chile. *Rev. Suisse Zool.*, 129(1), 1-17.

PENKOV S, RAGHURAMAN BK, ERKUT C, OERTEL J, GALLI R, ACKERMAN EJM, VORKEL D, VERBAVATZ JM, KOCH E, FAHMY K, SHEVCHENKO A, KURZCHALIA TV. 2020. A metabolic switch regulates the transition between growth and diapause in *C. elegans*. *BMC Biol*. 18(1):31.

PLANCARTE, A., & NAVA, G. 2022. Oxygen and redox reactions contribute to the protection of free-living and parasite helminths against pathogens and/or host

response. In J. Morales-Montor, V. H. D. Río-Araiza, & R. H. Bello (Eds.), *Parasitic Helminths and Zoonoses - From Basic to Applied Research*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102542>

PRAT, D., WELLS, A., HAYLER, J., SNEDDON, H., MCELROY, C. R., ABOU-SHEHADA, S., & DUNN, P. J. 2016. CHEM21 selection guide of classical-and less classical-solvents. *Green Chem*, 18(1), 288-296.

PTATSCHECK, C., GEHNER, S. & TRAUNSPURGER, W. 2020. Should we redefine meiofaunal organisms? The impact of mesh size on collection of meiofauna with special regard to nematodes. *Aquat Ecol* 54, 1135–1143.

PTATSCHECK, C., TRAUNSPURGER, W. 2020. The ability to get everywhere: dispersal modes of free-living, aquatic nematodes. *Hydrobiologia* 847, 3519–3547

QAZI, F., KHALID, A., PODDAR, A. TETIENNE, J-P. NADARAJAH, A., ABURTO-MEDINA, A., SHAHSAVARI, E., SHUKLA, R., PRAWER, S., BALL, A. & TOMLJENOVIC-HANIC, S. 2020. Real-time detection and identification of nematode eggs genus and species through optical imaging. *Sci Rep* 10, 7219

RADHIKA, B., & BINDU, C. H. 2018. Anti-helminthic activity of *Leucas zeylanica* linn leaves. *Int. j. pharm. biol.*, 9(2), 70-73.

REYES, D. E., OLMEDO, A., & MENDOZA, P. 2021. Control and prevention of nematodiasis in small ruminants: background, challenges and outlook in Mexico. *Rev Mex Cienc Pecu*, 12, 186-204.

ROQUE, K. 2018. Análisis comparativo de métodos de concentración y técnicas de identificación de *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* spp en muestras de agua no potable para consumo humano. Tesis de Licenciatura en Laboratorio Clínico. Universidad de El Salvador.

SALIMI, A., VAGHAR-MOUSSAVI, M., SEYDI, E., & POURAHMAD, J. 2016. Toxicity of methyl tertiary-butyl ether on human blood lymphocytes. *ESPR*, 23(9), 8556-8564

SOARES, F., BENITEZ, A., DOS SANTOS, B., NERY, S., ROSA, S., NAGATA, W., INÁCIO, S., NAGASE, C., SARAIVA, K., FALCÃO, A., GOMES, J. 2020. A historical review of the techniques of recovery of parasites for their detection in human stools. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 53.

SOUZA, A. O., TASSO, M. J., OLIVEIRA, A. M., PEREIRA, L. C., DUARTE, F. V., OLIVEIRA, D. P., PALMEIRA, C. & DORTA, D. J. 2016. Evaluation of Polybrominated diphenyl ether toxicity on HepG2 cells—hexabrominated congener (BDE-154) Is less toxic than tetrabrominated congener (BDE-47). *BCPT*, 119(5), 485-497.

- TRAN, T. T., PHAM, T. L., TRAN, T. H. Y., NGUYEN, T. M. Y., & NGO, X. Q. 2020. Assessing Changes in Ecological Quality Status of Sediment in Tri An Reservoir (Southeast Vietnam) by using Indicator of Nematode Communities. *VNU JS: NST*, 36(1): 45-56.
- TRAUNSPURGER, W., S. HO"SS, A. WITTHO"FT-MU"HLMANN, M. WESSELS & H. GU"DE. 2012. Meiobenthic community patterns of oligotrophic and deep Lake Constance in relation to water depth and nutrients. *Fundam Appl Limnol* 180: 233–248.
- TRABELSI, S., HANACHI, M., CHEIKHROUHO, S., ALOUI, D., BOUCHEKOUA, M., KHALED, S. 2018. Comparison between three concentration techniques for diagnosing intestinal parasites. *bioRxiv*, 308015.
- VALOLAHTI, A. V. 2022. Prevalence of internal parasites in pet and zoo reptiles in Estonia. Master's thesis, Eesti Maa"likool.
- VEROCAI, G. G., CHAUDHRY, U. N., & LEJEUNE, M. 2020. Diagnostic Methods for Detecting Internal Parasites of Livestock. *Vet. Clin. North Am. Food Anim.*, 36(1), 125–143.
- WU HC, CHEN PC, & TSAY TT. 2010. Assessment of nematode community structure as a bioindicator in river monitoring. *Environ Pollut.*;158(5):1741-7.
- YARO, C. A., KOGI, E., & LUKA, S. A. 2018. Spatial distribution and modeling of soil transmitted helminthes infection in Nigeria. *Adv Infect Dis*, 8(02), 82.
- YILMAZ LS, WALHOUT AJ. 2016. A *Caenorhabditis elegans* genome-scale metabolic network model. *Cell Syst*. 25;2(5):297-311.
- ZULLINI, A., & SEMPRUCCI, F. 2020. Morphological differences between free-living soil and freshwater nematodes in relation to their environments. *Nematology*, 22(2), 125–132.

ANEXOS

ANEXOS

Larvas únicamente reportadas en agua tratada

- *Anatonchus*
- *Cephalobus*
- *Cylindrocorpus*
- *Prismatolaimus*
- Uncinaria

Larvas únicamente reportadas en agua cruda

- *Aulolaimoides*
- *Iotonchus*
- *Monochromadora*
- *Mononchoides*
- *Mononchus*
- *Nothotylenchus*
- *Rhabditis*
- *Seinura*
- *Xiphinema*

Cuadro 4. Características físicas-químicas de las muestras de agua cruda de la Planta Potabilizadora Centenario de Pacora.

<i>Agua cruda</i>	Fecha	Turbiedad NTU	pH	Temperatura °C	Conduct.	STD (mg/L)	Salinidad	Condición climática
Ep lluviosa 2021	28-sep	1.76	7.17	25.4	162.5	77.1	0.08	N
	21-oct	29.2	6.52	25.7	303	144.8	0.14	S
	23-nov	17.3	6.86	25	341	151.1	0.13	N
Ep seca 2022	17-ene	1.88	6.86	25.2	426	210.5	0.2	N
	15-feb	2.91	6.89	25.6	189.6	91.2	0.09	N
	15-mar	2.37	6.4	26.4	215.7	102.8	0.1	S

Cuadro 5. Características físicas-químicas de las muestras de agua tratada de la Planta Potabilizadora Centenario de Pacora.

<i>Agua tratada</i>	Fecha	Cloro residual (mg/L)	Turbiedad NTU	pH	Temperatura °C	Conduct.	STD (mg/L)	Salinidad	Condición climática
Ep lluviosa 2021	28-sep	0.80	0.35	6.96	27.3	132.8	63.4	0.06	N
	21-oct	0.40	0.29	7.06	27.6	219.3	104.2	0.1	S
	23-nov	1.37	0.38	6.59	26.6	268	164.2	0.16	N
Ep seca 2022	17-ene	0.78	0.27	6.65	27	197.6	93.6	0.09	N
	15-feb	1.01	0.91	6.7	27	192.2	91.6	0.09	N
	15-mar	1.49	0.22	6.55	28.3	201.8	95.9	0.09	S

4.2 **Características Físico químicas:** los parámetros fisicoquímicos del agua potable deben cumplir con los valores indicados en la Tabla No.2.

TABLA No. 2
VALORES PARA LOS PARAMETROS FISICOQUÍMICOS

Parámetros	Unidades	Valor Permitido
Olor y Sabor	NA	Aceptable
Color	UC	15
Turbiedad	UNT	1
Potencial de Hidrógeno	unidades de pH	6,5 - 8,5
Cloro residual libre	mg/L	0,3 - 0,8
Microcystina LR	mg/L	0,001

VP: Valor Permitido
UC: Unidad de Color

NA: No Aplica
UNT: Unidad Nefelométrica de Turbiedad

Fig. 13. Valores físicos-químicos permitidos en el agua tratada por el reglamento técnico: DGNTI-COPANIT 21-2019.



Fig. 14. Estilete ejemplar de *Xiphinema* sp., 40x.



Fig. 15. Cola y abertura genital de larva ejemplar de *Xiphinema* sp. 40x

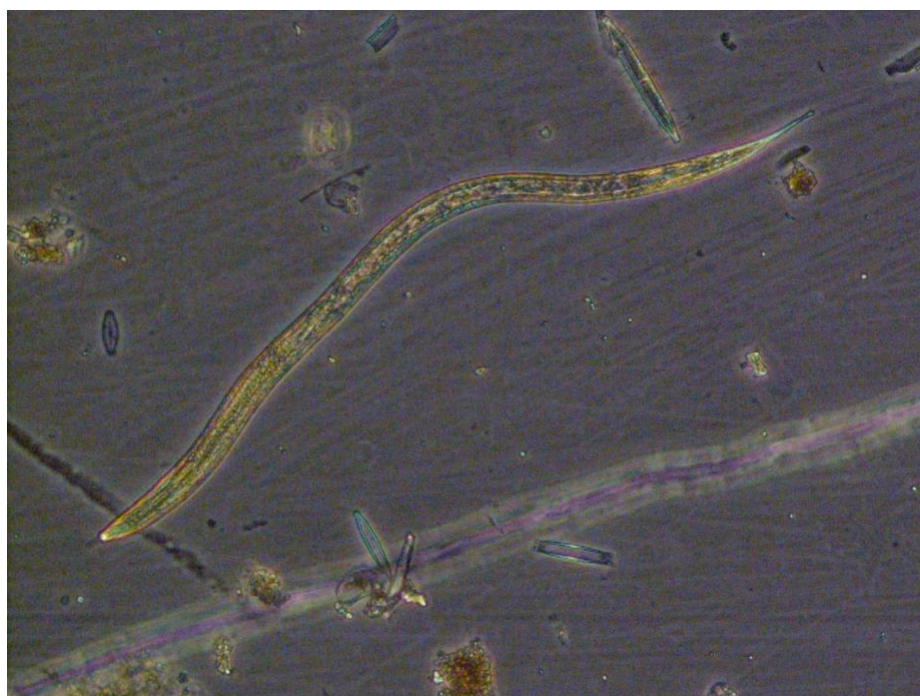


Fig. 16. Larva de *Xiphinema* sp. a 20x



Fig. 17. Abertura bucal de *Paraphanolaimus* sp. se observa estoma corto y estrecho 20x



Fig. 18. Larva de *Paraphanolaimus* sp. 10x



Fig. 19. Larva de *Strongyloides* sp. se observa cola bifurcada, 20x.



Fig. 20. Larva de *Strongyloides* sp. esófago corto y vaina, 40x.

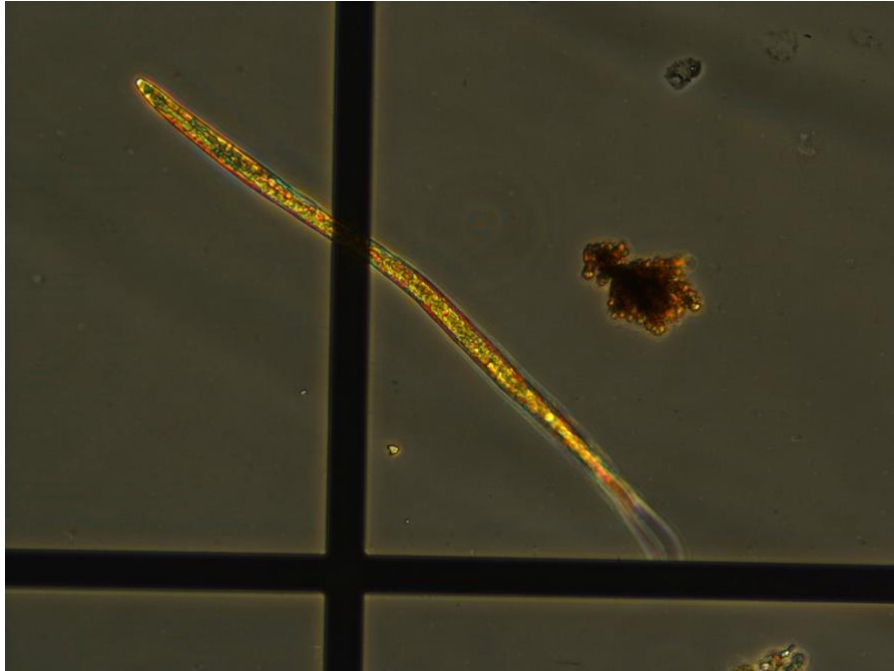


Fig. 21. Larva de uncinaria, 20x.

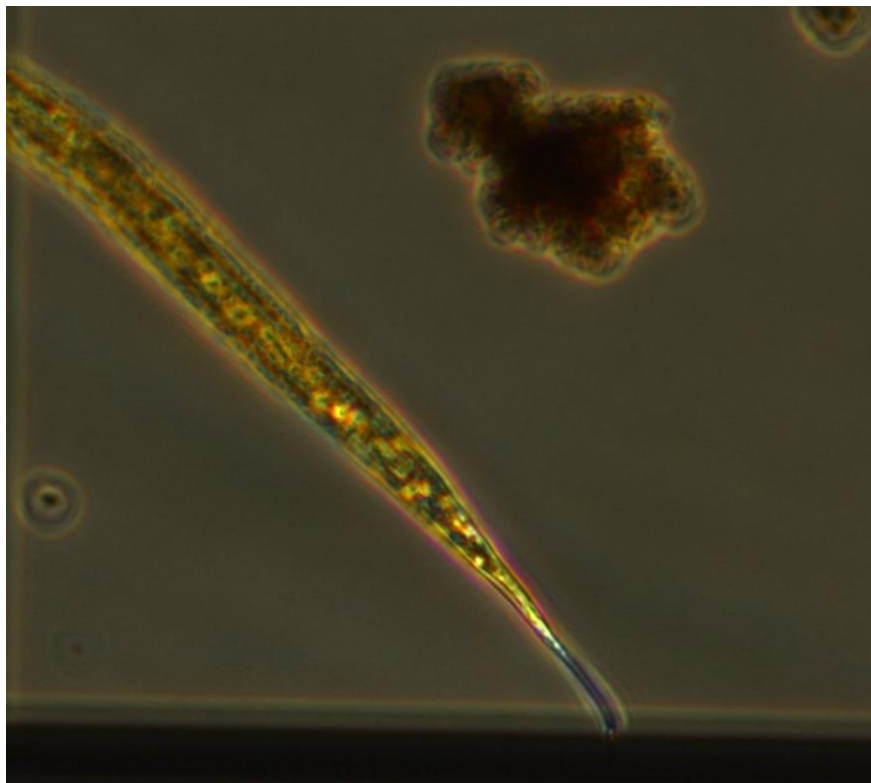


Fig. 22. Larva de uncinaria, 20x.