Helminthes eggs as bio-indicators for soils contamination (Study case: Ghenieri -Jableh- Syria)

Dr.Amal I. Dayoub*
Bushra M. Hasan**

(Received 27 / 4 / 2022. Accepted 15 / 11 /2022)

□ ABSTRACT □

In order to reveal the contamination of soils in Jableh district \Ghenieri\ with wastewater which irrigated with Al-Hwiez Dam lake water, where the sewage is drained from the neighboring villages directly without treating, we relied on the helminthes eggs as one of the most important bio-healthy indicators in this field according to World Health Organization (WHO).

soil samples were collected from two sites S1 and S2 in wet and dry seasons from June 2021 to January 2022 in order to processed in the laboratory to determine the presence and concentration of helminthes eggs, types and spread based on specific reference.

The microscopic analysis shows contamination with helminthes eggs in the dry seasons with a count of 14-8 egg/4.5g in S1 and S2 respectively, which is higher than the permissible limit according to the standards set by the World Health Organization. According to the approved international classification standards, the morphological and taxonomic study of the recovered eggs showed that it has belong to seven types, namely: *Ascaris sp.* (%40.14), *Ancylostoma duodonela* (%4.99), Hookworms (4.99%), *Entrobius Vermicularis* (%19.96), *Fasciola hepatica* (%4.99), *Taenia sp*. (%14.97), *Hymenolepis nana* (%9.98), and cysts belong to protozoa .The most prevalent eggs were *Ascaris sp* and *Enterobius vermicularis*. The study showed the absence of pollution in the rainy seasons, this may be due to the lack of irrigation and the total dependence on rainwater, thus the eggs washed away into the deeper layers of the soil or they are lost with the wastewater.

As a result, this study proved that the soil irrigated with Al-Hwiez Dam water in Ghenieri were contaminated with helminth eggs, hence preventive measures should be taken to prevent the spread of intestinal worms' diseases and other wastewater-transmitted pathogens.

Keywords: STH, soil contamination, wastewater, bio-indicators.

* **Professor- Department of Environmental Prevention- Higher Institute for Environmental Researches- Tishreen University- Lattakia, Syria. aamaldd@yahoo.com**
****postgraduate student- Department of Environmental Prevention- Higher Institute for Environmental Researches- Tishreen University- Lattakia, Syria. bushra.hasan@tishreen.edu.sy**

بيوض الديدان الطفيلية كمؤشرات حيوية لتلوث الترب الزراعية (حالة الدراسة: منطقة غنيري، جبلة- سورية)

د. أمل ابراهيم ديوب*

بشرى محمد حسن **

(تاريخ الإيداع 27 / 4 / 2022. قبل للنشر في 15 / 11 / 2022)

□ ملخّص □

تلوث الترب الزراعية في منطقة غنيري /جبلة/ بالصرف الصحي نتيجة الري بمياه بحيرة سد الحويز التي تتعرض للطرح العشوائي لمخلفات الصرف الصحي من عدد من القرى على أطراف البحيرة دون أي معالجة مسبقة. تم اجراء دراسة مخبرية للتقصي عن أهم الدلائل الحيوية لتلوث الترب بمياه الصرف الصحي حسب منظمة الصحة العالمية وهي بيوض الديدان الطفيلية.

جُمعت عينات التربة من موقعين مختلفين S1 وS2 في منطقة غنيري في جبلة خلال فصلي الجفاف والأمطار بين عامي 2021-2022، وفحصت مخبرياً وفق الطّرائق المرجعيّة المعتمدة للكشف عن وجود تلوث ببيوض ديدان طفيلية وتحديد أنواعها ومعدل انتشارها.

أظهرت نتائج الفحص المجهري لعينات التربة المدروسة وجود تلوث بالبيوض خلال موسم الجفاف بتعداد 3.1- 1.7 بيضة/1غ لكل من الموقعين S1 وS2 على التوالي وهو أعلى من الحدّ المسموح به وفق المعايير المحددة من قبل منظّمة الصّحة العالميّة، كما وأظهرت نتائج الدراسة الشكليّة والتصنيفيّة للبيوض المسجلة اعتماداً على المعايير التصنيفية العالميّة أنّها تعود إلى سبعة أنواع هي: الأسكاريس *Ascaris sp* (40,14%) والمُلقُوات العفجية *Ancylostoma duodonale* (4,99%) والديدان الخطافية Hookworms (4,99%) والسرمية الدويدية *Enterobius vermicularis* (19,96%) والوريقة الكبدية *Fasciola hepatica* (4,99%) والديدان الشريطية *Taenia sp.* (14,97%) والمحرشفة المتقزمة *Hymenolepis nana* (9,98%)، وكما لوحظ وجود أكياس تنتمي تصنيفياً الى الأوالي الحيوانية الطفيلية، وكانت بيوض الأسكاريس هي الأكثر انتشاراً تليها السرمية الدويدية. أما في موسم الأمطار فقد انعدم التلوث، وهذا يعود الى قّلة الري والاعتماد الكلّي على مياه الأمطار والتي تؤدي أيضاً لغسل التربة وبالتالي انغسال البيوض إلى طبقات التربة الأعمق أو ضياعها مع ماء الصّرف.

بالنتيجة أثبتت الدراسة أن الترب المروية بمياه سد الحويز في منطقة غنيري ملوثة ببيوض ديدان طفيلية بشرية وحيوانية المنشأ ولابد من اتخاذ الإجراءات الوقائيّة اللازمة لمنع تفشّي أمراض الديدان المعوية وغيرها من الأمراض الأخرى الناجمة عن التلوث بمخلفات الصرف الصحي.

الكلمات المفتاحية: بيوض ديدان طفيلية، تلوث الترب، صرف صحي، مؤشرات حيوية.

*أستاذ-قسم الوقاية البيئية-المعهد العالي لبحوث البيئة-جامعة تشرين- اللاذقية-سورية aamaldd@yahoo.com

**طالبة ماجستير -قسم الوقاية البيئية- المعهد العالي لبحوث البيئة -جامعة تشرين -اللاذقية -سورية bushra.hasan@tishreen.edu.sy

مقدمة:

يعد تلوث الترب ببيوض الديدان الطفيلية مصدر قلقٍ صحي على مستوى العالم نظراً لطبيعة مقاومتها للظروف البيئية المختلفة (Rai *et al*., 2000)، كما أنها من أكثر الأمراض الطفيليّة المعويّة شيوعاً وذات أهميّة طبّية للإنسان، وهي شائعة في البلدان المتطوّرةِ والنّامية وخاصةً في الأقاليم المداريّة وتحت المداريّة من العالم، وتُفضل الترب الرّطبة والدّافئة (Stolk *et al*., 2016).

يُقدّر عدد المُصابين بالديدان الطفيلية حوالي 24% من سكّان العالم أو ما يُعادل أكثر من 1.5 مليار شخص (WHO, 2022)، وأكثرها شيوعاً عند الإنسان ديدان الأسكاريس *Ascaris sp*، شعريّة الرّأس *Trichuris trichiura* والدّيدان الخطافية Hookworms (الملقوات العفجية *Ancylostoma duodenale* او الفتاكة الأميركية *Necator americanus*) (Strunz *et al*., 2014).

يعد وصول المواد البرازية (البشرية والحيوانية) إلى التربة السبب الرئيس لانتشار بيوض الديدان الطفيلية هذا بالإضافة الى أن الإستخدام المتكرر لمياه الصرف الصحي والحمأة بشكل كبير في مجال الزراعة وخاصةً في وقتنا الحاضر يؤدي إلى تراكم البيوض في التربة الزراعية (Amoah *et al*., 2016).

نظراً لأهمية الدور الذي تلعبه التربة كوسط لانتقال البيوض الى الإنسان، فقد أجريت العديد من الدراسات العالمية للكشف عن مدى تلوث الترب ببيوض الديدان الطفيلية وتركيز وكثافة وعيوشية هذه البيوض في التربة وخاصة في أماكن التجمعات مثل الحدائق، الشواطئ، الباحات والمنتزهات، الأراضي الزراعية وغيرها الكثير تحت ما يسمى بالتربة (Blaszkowska *et al*., 2011; Steinbaum *et al*., 2017; Amoah *et al*., 2018). أما محلياً فقد اقتصرت على دراسة واحدة (سلمان، 2002) بغية تحديد مدى تلوث الخضراوات التي تؤكل طازجة ببيوض ديدان طفيلية والدور الذي تلعبه الترب الزراعية التي تروى بمياه ملوثة بشبكات الصرف الصحي في مناطق محددة من محافظة اللاذقية.

أهمية البحث وأهدافه:

أهمية البحث:

للبحث أهمية علمية وطبيّة وبيئيّة وزراعيّة وذلك بمعرفة مدى تلوث الترب الزراعيّة ببيوض ديدان طفيلية في مناطق محددة من الساحل السوري والمرويّة بمياه ملوثة بالصّرف الصّحي وتحديد أنواعها ومدى انتشارها في البيئة وخطورتها على حياة الإنسان، كما أن نتائج البحث تقدم معلومات توعوية للمزارعين والمستهلكين للخضراوات المزروعة بتلك الترب بخطر استخدام مياه الصّرف الصحي في الري.

أهداف البحث:

نظراً لقلة الدراسات المحلية التي اهتمت بالكشف عن وجود تلوث ببيوض ديدان طفيلية في الترب الزراعية فقد هدفت هذه الدراسة إلى:

1. الكشف عن انتشار بيوض ديدان طفيلية في ترب زراعية في منطقة غنيري_جبلة وتحديد أنواعها ومعدل انتشارها.
2. محاولة تحديد مصادر التلوث بهذه البيوض في الترب الزراعية المدروسة والإجراءات اللازمة للحد من انتشارها في البيئة.

طرائق البحث ومواده:

-موقع الدراسة: نُفذت الدراسة على موقعين زراعيين في بلدية غنيري التابعة لمنطقة جبلة S1 وS2، المختلفين بالخصائص الفيزيائية الواضحة بالعين المجردة كلون التربة أو بالفحص الحقلي المباشر كالملمس ودرجة الحموضة، ومزروعين بأنواع مختلفة من الخضراوات، والمرويتين بشكل مباشر بطريقة الغمر من مياه بحيرة سد الحويز الذي يقع على نهر برغل جنوب شرق اللاذقية بمسافة 40 كم الشكل (1). بني السد في الفترة بين 1980-1986م لاستخدامات الري، ويعد من السدود الهامة في منطقة الساحل السوري حيث تبلغ السعة التخزينية العظمى لجسم السد حوالي 16.5 مليون م3 (Al-Sinn Project, 1997)، تطرح فيه مياه الصّرف الصحي لكلٍّ من بلدات غنّيري وقصّابين والقلايع بشكل مباشر دون أية معالجة.

الشكل (1) صورة فضائية توضح موقع بلدية غنيري وسد الحويز

-جمع العينات وتحليلها: جُمعت عينات التربة من أماكن قريبة من انتشار الجذور خلال موسمي الأمطار والجفاف للعام 2021-2022 من موقعين S1 وS2 بواقع 8 عينات فردية من كل موقع ومن عمق لا يتجاوز 0-15 سم عن سطح التربة ووضعت العينات في اكياس بلاستيكية نظيفة، ثم خلطت عينات الموقع الواحد معاً لتشكيل عينة مركبة بوزن كلي حوالي 1200غ لكل موقع وسجلت عليها معلومات تتعلق بالموقع وتاريخ الجمع، ثم نقلت العينات الى مخابر المعهد العالي لبحوث البيئة -قسم الوقاية البيئية-جامعة تشرين لاستكمال الدراسة المختبرية.

-الدراسة المختبرية: تضمنت الدراسة المختبرية تحليل لعينات التربة المجموعة للكشف عن وجود بيوض ديدان طفيلية، والتي جُفّفت في البداية هوائياً ثم نخلت بمنخل قطر ثقوبه 2مم للتخلص من الشوائب غير المرغوبة، ثم خضعت للتحليل الطفيلي بطريقة الترسيب المحسنة باستخدام عدة محاليل ومن أهمها محلول سلفات الزنك لاسترجاع البيوض من التربة وفق (Steinbaum *et al.*, 2017)، وفُحصت بشكل مباشر مجهرياً باستخدام شريحة

McMaster لحساب تعداد وكثافة البيوض، ثم حدّدت أنواع البيوض المسترجعة بالاعتماد على المواصفات الشكلية والقياسات الميكرومترية للبيوض ومقارنتها مع المفاتيح التصنيفية العالمية (Moodley *et al*., 2008).

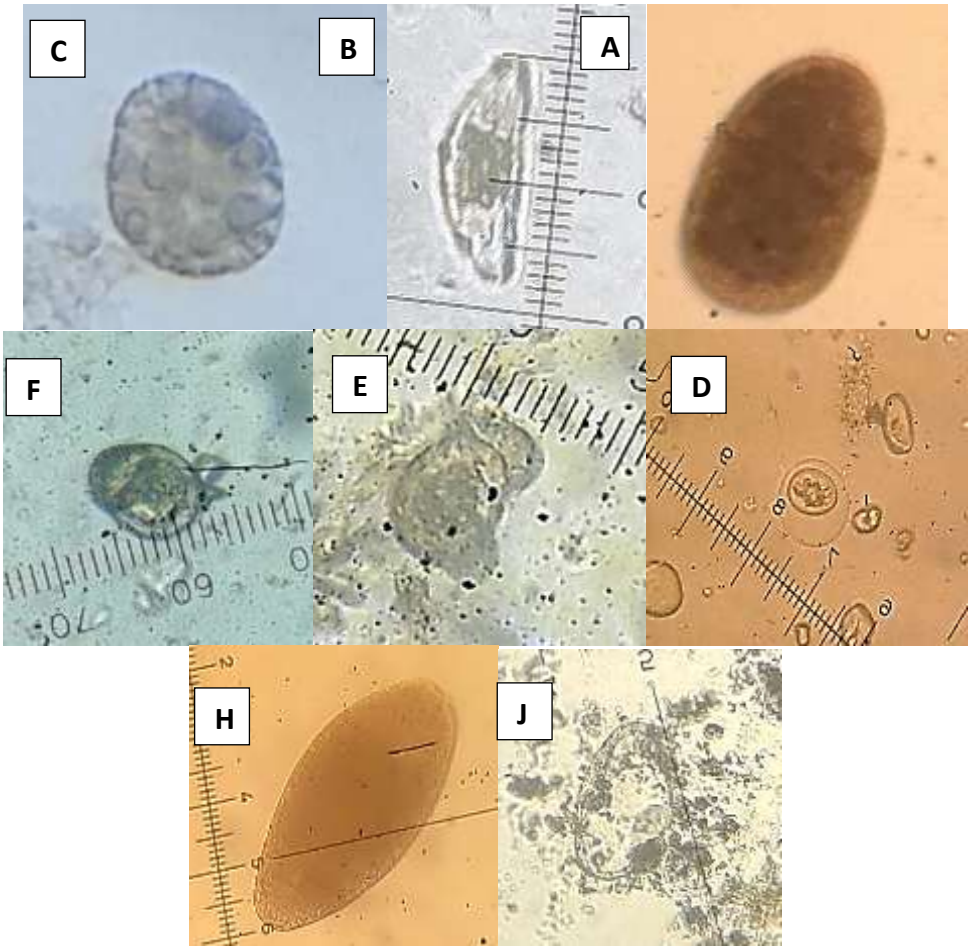
النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج الفحص المجهري للعينات وجود أنواع مختلفةٍ من بيوض الديدان الطفيليّة في الترب الزراعية المدروسة، حيث بينت الدراسة الشكليّة والتصنيفيّة للبيوض المسترجعة مقارنةً مع المعايير التصنيفيّة العالميّة المعتمدة أن البيوض تعود إلى **سبعة** أنواع موضحة في الجدول (1) والشكل (2)، كما سجل وجود تلوث بأكياس طفيلية تعود لنوع من الأوالي الحيوانية *Protozoa* تتبع لصف المتحولات *Amoeboids* في الموقع S1 فقط المميزة من ناحية الشكل والقطر وظهور بعض البنى الداخلية الواضحة الهامة تصنيفياً كالنوى لكن لعدم قدرتنا على تحديد عددها بدقة فقد تم تصنيفها على مستوى الجنس فقط *Entamoeba sp* كما هو مبين في الشكل (2. A). بلغ متوسط التعداد العام للبيوض 2.65، 1.7 بيضة/1غ في عينات الترب المدروسة من الموقعين S1 وS2 على التوالي وهو أعلى من الحدّ المسموح به وفق منظمة الصحة العالمية للترب المروية بمياه ملوثة بمخلفات الصّرف الصحي وهو1 بيضة/غ (WHO. 2006).

الجدول 1. نوع وتعداد بيوض الديدان الطفيلية المسترجعة من عينات التربة المدروسة

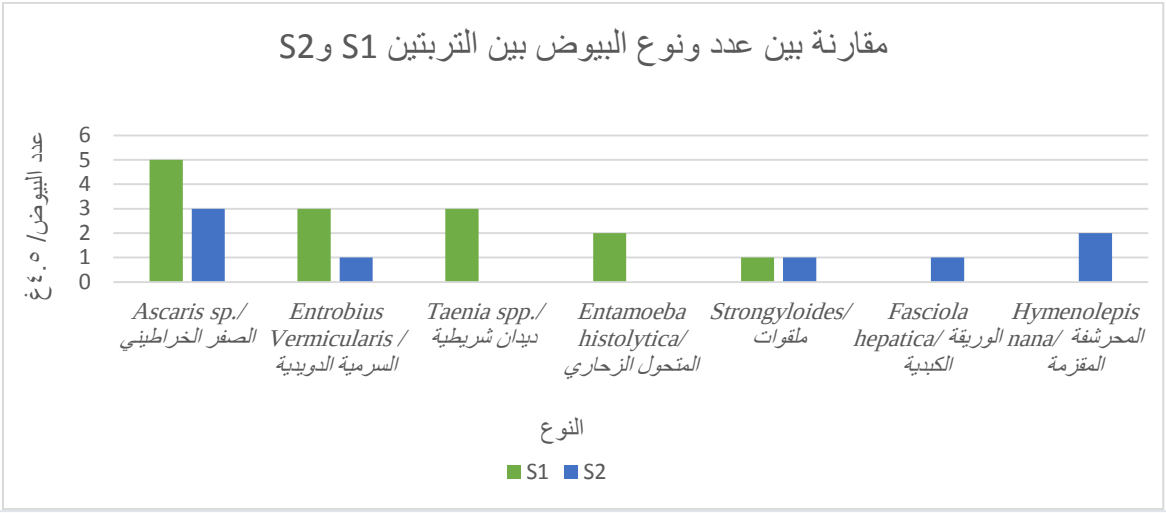
S1		S2	
النوع	التعداد بيضة/1 غ	النوع	التعداد بيضة/1 غ
/ الصفر الخراطيني *Ascaris sp.*	1.11	/ الصفر الخراطيني *Ascaris sp.*	0.66
/ ديدان شصيه Hookworm	0.22	/ *المحرشفة المقزمة Hymenolepis nana*	0.44
/ السرمية الدويدية *Enterobius vermicularis*	0.66	/ السرمية الدويدية *Enterobius vermicularis*	0.22
/ الدودة الشريطية *Taenia spp*	0.66	/ ملقوات عفجية *Ancylostoma duodenale*	0.22
–	-	/ *الوريقة الكبدية Fasciola hepatica*	0.22
المجموع	2.65	–	1.76

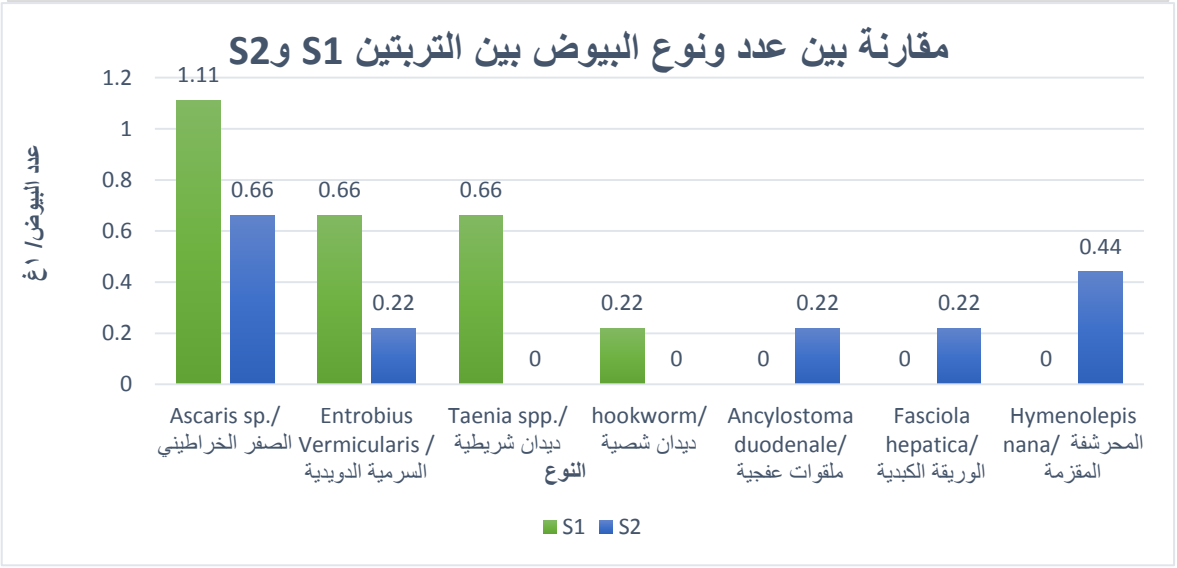
أيضاً من الجدول (1) ارتفاع بكثافة بيوض ديدان الأسكاريس مقارنةً مع باقي الأنواع المسترجعة بطريقة التعويم بمحلول سلفات الزنك وقد توافق ذلك مع نتائج الباحثَين (Babia-Abion& Paller, 2019) في الفلبين الذين تمكنوا من استرجاع بيوض الأسكاريس بنسبة وصلت إلى 39 % باستخدام الطريقة ذاتها، وأيضاً مع دراسة Ristic *et al*., (2020) في صربيا حيث أثبتوا أن عينات التربة المدروسة ملوثة بسبعة أنواع من بيوض الطّفيليات وكانت الأسكاريس أكثرها انتشاراً بنسبة 14-22% باستخدام ذات الطريقة، أما محلياً في دراسة (سلمان، 2002) في محافظة اللاّذقية لوحظ ارتفاع بكثافة بيوض الديدان الشريطية بتعداد بلغ 59بيضة/100غ تربة تلتها الأسكاريس بتعداد 56 بيضة/100غ لكنها بقيت ضمن الحدود المسموح بها عالمياً.



الشكل (2): بعض الأنواع الطفيلية المسترجعة 20X؛ A–كيسة المتحول *Entamoeba sp.*، **B–السرمية الدويدية** *Entrobius Vermicularis*، **C–ملقوات عفجية** *Ancylostoma duodenal*، **D–الشريطيات** *Taenia sp.*، **E–الأسكاريس** *Ascaris sp.*، **F-المحرشفة المقزمة** *Hymenolepis nana*، J-**المتورقة الكبدية** *Fasciola hipatica*، H-**ديدان خطافية** Hookworms sp.

أما بالنسبة للتباين في أنواع البيوض المسترجعة من الموقعين وكثافتها، فقد تبين أن الموقع S1 كان أكثر تلوثاً من الموقع S2 ويعود ذلك إلى اختلاف سلوك المزارعين حيث من المرجح أن عمليات التسميد العضوي المتكرّرة في الموقع S1 قد ساهمت وبشكل ملحوظ في زيادة عدد وكثافة البيوض مقارنة مع S2 وفق الشكل (3).





الشكل (3) التباين بين أعداد وأنواع البيوض المسجلة في موقعي الدراسة

كما بينت الدراسة تبايناً واضحاً جداً في عدد وكثافة البيوض ما بين الفترات الجافة والممطرة، حيث انعدم التلوث تماماً خلال فترة الأمطار الممتدة من شهر كانون الأول 2021 إلى شهر شباط 2022 وهذا يتخالف مع نتائج الباحثين (Stojčević *et al*,. 2010) في كرواتيا حيث وجدوا أن نسبة انتشار البيوض في شهر حزيران 45% وفي شهر كانون الأول كانت النسبة 75%؛ ويمكننا أن نعزي انعدام التلوث في الفترة الممطرة إلى قلّة الريّ والاعتماد الكلّي على مياه الأمطار التي لم يسبق أن شهدتها المنطقة منذ سنوات وبالتالي انغسال البيوض من الطّبقات السّطحية للتربة وانتقالها إلى الطّبقات الأعمق أو ضياعها مع مياه الصّرف، لكن النّتيجة الأهم هي كثافة البيوض المسجلة في وزن 1غ تربة جافة وهذا ناتج عن عملية تراكميّة للبيوض نتيجة الرّي المتكرّر بمياه ملوثة بالصرف الصّحي (سد الحويز) ربما لعدة سنوات متلاحقة إذ أن أهم ما يُميّز بيوض الديدان الطفيليّة عن غيرها من المؤشرات الحيويّة المستخدمة في تقييم التلوّث بالصّرف الصّحي والمعتمدة من قبل منظمة الصّحة العالميّة هو طول فترة كمونها في التربة، وخاصّةً بيوض ديدان الاسكاريس، دون عائل مضيف ومقاومتها العالية لتغيرات ظروف البيئة المحيطة (Nelson & Darly, 2001)، إذاً تعد التربة الوسط البيئي الأمثل للبيوض والتي تفضّل الظروف المعتدلة من حرارة ورطوبة ودرجة حموضة مائلة للقلويّة والتي تؤمنها معظم الترب حيث كشف (Ziegelbauer *et al*., 2012) أن التربة تلعب دوراً رئيسياً في

دورة حياة الدّيدان الطفيليّة وحدوث العدوى حيث بينت العديد من الدراسات أن العدوى بالديدان الحبلية المنقولة عن طريق التربة يمكن أن تحدث إما بشكل مباشر عن طريق تناول بيوض الديدان من المياه الملوثة بالصرف الصحي أو التربة أو الطعام مثل الإصابة بالاسكاريس، أو اختراق الجلد من قبل اليرقات الخامجة مثل الدودة الكلابية (Hookworm)، هذه البيوض واليرقات تقاوم لفترة زمنية طويلة في التربة الرطبة والدافئة وخاصةً في المناطق المدارية وشبة المدارية.

الاستنتاجات والتوصيات:

-الاستنتاجات:

1) تلوث الترب الزراعيّة في منطقة غنيري ببيوض الديدان الطفيليّة وبالتالي فإن مياه الري الملوّثة بمخلّفات الصّرف الصحي والزراعيّ تشكل معبراً لانتقال المسبّبات المرضية (بيوض ديدان طفيليّة) إلى التربة ومنها إلى الخضروات المزروعة والتي من المحتمل أن تكون أشدّ وطأةً في حال كانت من الأنواع التي تؤكل طازجة، وقد يؤدي تتابع الري بهذه المياه إلى تراكم البيوض في التربة وزيادة تركيزها وبالتالي زيادة خطر الإصابة بالعدوى.

2) يمكن أن تكون الترب الملوثة مصدراً لتلوث محتمل للمسطحات المائيّة من خلال عمليات الصّرف الزراعي، وبالتالي إمكانية استكمال دورة الحياة لبعض الديدان التي تحتاج في البداية لتطور وفقس البيوض في الماء وتحرر الجنين المهدب ومروره بعدة مراحل تطورية داخل عوائل وسيطة كالحلزون وبراغيث الماء وبعض القشريات الأخرى حتى يصل للمرحلة المعدية للإنسان التي تنتقل إما من الماء مباشرةً كالجنين المذنب عند البلهارسيا أو تناول المرحلة المعدية الميتاسركاريا Metacercariae عبر النباتات المائية عند الوريقة الكبدية .... الخ.

-التوصيات:

1) إنشاء محطات لمعالجة مياه الصّرف الصحي للتجمّعات السّكانية في منطقة الدراسة ومنع طرحها بشكل مباشر في مياه بحيرة سد الحويز.

2) إجراء تحاليل دورية للمياه والمزروعات للتأكد من خلوّها من المسبّبات المرضيّة المختلفة.

3) إجراء المزيد من الدراسات والأبحاث على الترب الزراعيّة المرويّة بمياه السد.

4) معالجة السّماد العضوي قبل استخدامه في التسميد.

5) ظهور أعداد من أكياس تتبع لصف المتحولات في التربة يستدعي إجراء المزيد من الدراسات المتمّمة لهذه الدراسة بهدف إضافة المزيد من الشّمولية والتنوّع لمثل هذا النوع من الأبحاث.

6) إجراء دراسات وأبحاث حول تأثير خصائص الوسط الحاضن للبيوض (تربة، مياه) سواء فيزيائية أو كيميائية أو حتى حيوية على وجود وعيوشيّة البيوض.

References:

- سلمان، حسن (2002). مدى تلوث بعض خضراوات المائدة الطازجة ببيوض ديدان طفيلية ممرضة في محافظة اللاذقية. *مجلة جامعة تشرين للعلوم الأساسية*. 24 (12)، 87 – 94.

Amoah ID; Abubakari A; Stenström TA; Abaidoo RC. and Seidu R (2016). Contribution of Wastewater Irrigation to Soil Transmitted Helminths Infection among Vegetable Farmers in Kumasi, Ghana. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(12):e0005161. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.000516.

- Amoah ID; Reddy P; Seidu R and Stenström TA (2018). Concentration of soil transmitted helminth eggs in sludge from South Africa and Senegal: a probabilistic estimation of infection risks associated with agricultural application. *J Environ Manag* 206:1020–1027.

- Al-Sinn Project (1997), *Final Detailed Design Report. Second Phase*. Moscow. 13/95-05-09.

- J; Wojcik A; Kurnatowski P and Szwabe K (2013). Biological interactions between soil saprotrophic fungi and Ascaris suum eggs. *Vet. Arasitol.* 196, 401–408.

- Moodley, P., Archer, C., Hawksworth, D., 2008. Standard methods for the recovery and enumeration of helminth ova in wastewater, sludge, compost, and urine diversion waste in South Africa, *Water Research Commission*. In: WRC Report No. TT322/08.

- Nelson KL and Darby JL (2001). Inactivation of viable Ascaris eggs by reagents during enumeration. *Applied Environmental Microbiology*, 67(12):5453–5459.

- Paller VGV and Babia-Abion S (2019). Soil-transmitted helminth (STH) eggs contaminating soils in selected organic and conventional farms in the Philippines. *Parasite Epidemiology and Control.* (7), e00119.

- Rai SK; Uga S; Ono K; Rai G and Matsumura T (2000). Contamination of Soil with Helminth Parasite Eggs in Nepal. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 31(2):388-93.

- M; Miladinović-Tasić N; Dimitrijević S; Nenadovic K; Bogunović D; Stepanović P and Ilić T (2020). Soil and Sand Contamination with Canine Intestinal Parasite Eggs as a Risk Factor for Human Health in Public Parks in Niš (Serbia). http://DOI:10.2478/helm-2020-0018.

- Steinbaum L; Kwong LH; Ercumen A; Negash MS; Lovely AJ; Njenga SM *et al* (2017). Detecting and enumerating soil-transmitted helminth eggs in soil: New method development and results from field testing in Kenya and Bangladesh. *PLoS Negl Trop Dis.* 11(4): e0005522. Retrieved Jan 15, 2021 from: https://doi.org/10.1371/journal.pntd. 0005522

- Stojčević D; Sušić V and Lučinger S (2010). Contamination of soil and sand with parasite elements as a risk factor for human health in public parks and playgrounds in Pula, Croatia. *VETERINARSKI ARHIV 80* (6), 733-742, 2010.

-Stolk WA; Kulik MC; le Rutte EA; Jacobson J; Richardus JH; de Vlas SJ (2016). Between-Country Inequalities in the Neglected Tropical Disease Burden in 1990 and 2010, with Projections for 2020. *PLoS Negl Trop Dis* 10(5): e0004560. doi: 10.1371/journal.pntd.0004560.

- Strunz EC; Addiss DG; Stocks ME; Ogden S; Utzinger J and Freeman MC (2014). Water, sanitation, hygiene, and soil-transmitted helminth infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*. 11, e1001620.

- World Health Organization (WHO). (2006). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and grey water: Wastewater use in agriculture (Volume 2). Report of a WHO

Scientific Group. WHO Technical Report Series 778. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

- World Health Organization (WHO). (2020). Soil-transmitted helminth infections. Retrieved Jan 15, 2022. from https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections.

- Ziegelbauer K; Speich B; Mäusezahl D; Bos R; Keiser J and Utzinger J (2012). Effect of Sanitation on Soil-Transmitted Helminth Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS Medicine*, 9(1):e1001162. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001162.