

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

***“Subsídios para a paleoparasitologia: avaliação da percolação de ovos de *Ascaris lumbricoides* e análise paleoparasitológica de sambaquis do Rio de Janeiro, Brasil”***

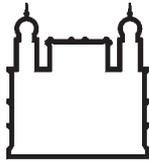
*por*

***Morgana Camacho Rodrigues de Almeida***

*Dissertação apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em Ciências na área de Saúde Pública.*

*Orientador principal: Prof. Dr. Adauto José Gonçalves de Araújo*  
*Segunda orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliana da Matta Furniel Dutra Santiago*  
*Terceira orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniela Leles de Souza*

*Rio de Janeiro, março de 2013.*



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

*Esta dissertação, intitulada*

*“Subsídios para a paleoparasitologia: avaliação da percolação de ovos de Ascaris lumbricoides e análise paleoparasitológica de sambaquis do Rio de Janeiro, Brasil”*

*apresentada por*

***Morgana Camacho Rodrigues de Almeida***

*foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:*

Prof. Dr. Otilio Machado Pereira Bastos

Prof. Dr. Sergio Augusto de Miranda Chaves

Prof. Dr. Adauto José Gonçalves de Araújo – Orientador principal

*Dissertação defendida e aprovada em 08 de março de 2013.*

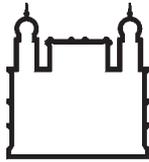
Catálogo na fonte  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica  
Biblioteca de Saúde Pública

A447 Almeida, Morgana Camacho Rodrigues de  
Subsídios para a paleoparasitologia: avaliação da percolação  
de ovos de *Ascaris lumbricoides* e análise paleoparasitológica de  
sambaquis do Rio de Janeiro, Brasil. / Morgana Camacho  
Rodrigues de Almeida. -- 2013.  
xx, f. 110: il. ; tab.

Orientador: Araújo, Adauto José Gonçalves de  
Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública  
Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2013

1. Parasitologia. 2. Sambaquis. 3. Tafonomia. 4. Helmintíases.  
5. *Ascaris lumbricoides*. I. Título.

CDD - 22.ed. – 616.9098153



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

## A U T O R I Z A Ç ã O

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores.

Rio de Janeiro, 08 de março de 2013.

---

Morgana Camacho Rodrigues de Almeida

/Fa

Aos meus pais.

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe que sempre esteve por perto para me apoiar e me aconselhar em qualquer decisão que eu tomasse, pela paciência durante minha criação, por ser minha amiga acima de tudo, por me amar incondicionalmente, por cada segundo maravilhoso que passei ao seu lado.

Ao meu pai por cuidar de mim, por sempre estar por perto, por me apoiar sempre, por estar ao meu lado mesmo nos momentos em que tinha que estar longe, pela paciência durante minha criação, por ser meu melhor amigo, por me amar incondicionalmente, por ser meu pai.

Aos meus queridos orientadores:

Ao meu orientador Dr. Adauto Araújo por iluminar meu caminho ao longo do mestrado, por me incentivar a prosseguir apesar das dificuldades, por estar sempre disponível para elucidar minhas dúvidas, por ser paciente, me aconselhar, por me fazer acreditar que tudo ia dar certo e principalmente por me aceitar como aluna e acreditar em mim.

À Dr.<sup>a</sup> Sheila Mendonça de Souza por seus conselhos, por estar sempre por perto para elucidar minhas dúvidas, por incitar meu raciocínio próprio, por me ceder seu tempo para conversas, pela paciência, pelas críticas, por gerar em mim o estímulo à pesquisa arqueológica em sambaquis e por me ajudar a crescer não só academicamente, mas também como pessoa.

À minha orientadora Dr.<sup>a</sup> Juliana Dutra Santiago por sua orientação, por me ajudar em tudo, pelas conversas, pelas dicas, pelas correções, pela força que me deu no momento mais difícil da minha vida, por me acalmar durante o nervosismo de minhas apresentações, por ser não só minha orientadora, mas também uma amiga que sei que posso contar para sempre.

À minha orientadora, Dr.<sup>a</sup> Daniela Leles de Souza, pela orientação, pelos conselhos e puxões de orelha, pelas ideias, correções, pelas explicações quando eu não entendia os desígnios do trabalho, por ser o que eu quero ser quando crescer.

À Dr.<sup>a</sup> Claudia Uchoa pela paciência e disponibilidade, pelos esclarecimentos sobre as técnicas e análises, pelos ensinamentos, por me ajudar sempre, mesmo antes de me conhecer.

Ao Dr. Otilio Bastos pelos ensinamentos e esclarecimentos sobre as diferentes técnicas parasitológicas, envolvendo não somente as feitas neste trabalho, por me ajudar sempre, por participar da minha banca de qualificação, por complementar o presente trabalho com suas sugestões.

Ao Dr. Renato Ramos pela atenção e pelo auxílio na elaboração da coleta do material necessário para a realização do experimento proposto neste trabalho.

À equipe de arqueólogos do Museu Nacional/UFRJ pela ajuda que recebi durante o período realizado em campo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Escola Nacional de Saúde Pública, pelo auxílio financeiro desta pesquisa.

Ao PRONEX/FAPERJ pelo financiamento parcial oferecido a esta pesquisa.

Ao meu namorado Ricardo Jonard por estar comigo nos momentos bons e ruins, por me auxiliar no melhor entendimento da arqueologia dos sambaquis, por me emprestar sua força e otimismo em tudo, por ser acima de tudo meu amigo e companheiro de todas as horas. Amo você.

Ao meu melhor amigo Jorge Farias por estar sempre presente, por me ajudar nos momentos difíceis e estar nos bons, por acreditar e confiar em mim, enfim, por ser meu amigo.

Aos meus amigos Priscilla Araújo, Thaíla Pessanha, Andressa Freire, João Daniel Oliveira, Shênia Novo, Erika Klein, Ricardo França, Hugo Costa, Edison Amarante, Mônica Vieira, Bruna Montenegro, Juliana Magalhães, Isabel Teixeira Santos, Victor Hugo Borba e Arthur Daniel por serem quem são, pessoas maravilhosas com as quais tenho orgulho de estar, de trabalhar e de compartilhar momentos de felicidade e também de dificuldade. Obrigada por fazerem parte da minha vida, pois sem vocês nada teria graça.

Aos meus amigos do mestrado pelo companheirismo, pela união nos momentos tensos e por terem se tornado não só amigos, mas também uma família.

À Dr.<sup>a</sup> Luciana Sianto pelos conselhos, pela ajuda, pelo direcionamento profissional, pelos ensinamentos.

Ao Dr. Sérgio Miranda pela ajuda durante as análises do projeto, por ter feito parte da minha banca de qualificação, pelas sugestões durante o processo, pela paciência, pelos ensinamentos.

Ao Dr. Luís Fernando Ferreira e à Natalina Jordão por me ajudar com os artigos, com sua experiência, pelos ensinamentos e sua paciência.

Aos meus professores do programa de pós-graduação em Saúde Pública, em especial à Joseli Nogueira, Rosemere Duarte, André Perissé, Valmir Laurentino, Antônio Duarte pelos ensinamentos, pela paciência e conselhos durante meu período como aluna.

Ao pessoal da SECA pela ajuda, pelos esclarecimentos, pela paciência.

À todas as pessoas que me auxiliaram e torceram por mim durante esta estrada.

“A mente que se abre a uma nova  
ideia jamais voltará ao seu tamanho  
original.”

Albert Einstein

## RESUMO

Achados de vestígios de parasitos em sambaquis e sítios semelhantes são raros. A percolação da água parece ser uma das suas causas tafonômicas, assim como da contaminação de camadas inferiores por ovos provenientes de camadas superiores. Cento e vinte e uma amostras de sedimentos de sambaquis foram analisadas e resultaram negativas para vestígios de parasitos, com isso não se pode eliminar a hipótese de que a técnica seja outro fator de negatividade dos achados. Para testar a percolação de ovos de *Ascaris lumbricoides* em sedimentos provenientes do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ, foram coletadas três colunas de sedimento indeformado, com tubos de alumínio, de perfis arqueológicos de diferentes constituições sedimentares, documentados por estratígrafo. Amostras de sedimentos controle também foram coletadas. Nas colunas foram introduzidos 1 milhão de ovos de *A. lumbricoides* e por um período de 45 dias durante duas vezes por semana, utilizados 350 ml de água destilada para umedecer o sedimento. Foi coletado todo o sedimento de cada camada, com base no perfil arqueostratigráfico, e separados 20 g para análise. A eficiência de três técnicas (sedimentação espontânea e centrífugo-flutuações com açúcar e sulfato de zinco a 33%) foi testada nas colunas e sedimentos controle. Pesquisa paleoparasitológica foi feita em sedimentos provenientes do Sepultamento 1 do mesmo sítio e de camadas de outro sambaqui, o Guapi. Os ovos introduzidos ficaram concentrados nas camadas superiores dos tubos, o que minimiza as chances de contaminação das camadas inferiores e dá maior segurança aos achados paleoparasitológicos em sambaquis. Nos sedimentos controle correspondentes aos tubos 1 e 3, assim como nos sedimentos contidos no tubo 3 foram encontrados ovos de ascarídeos. No sambaqui Guapi foram encontrados dois ovos de Acanthocephala, um ovo da superfamília Heterakoidea e um ovo da superfamília Ascaridoidea. A percolação parece não ser responsável pela raridade dos ovos de parasitos em sedimentos provenientes de sambaquis. A sedimentação espontânea e a centrífugo-flutuação com açúcar se mostraram mais eficientes na recuperação dos ovos experimentalmente introduzidos. Os achados de ovos (não experimentais) nos sedimentos destes dois sambaquis são os primeiros achados em sambaquis do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: paleoparasitologia, sambaquis, tafonomia, helmintíases, *Ascaris lumbricoides*.

## ABSTRACT

Parasite findings in *sambaqui* and similar archaeological sites are scarce. The water percolation seems to be one of the taphonomic causes for this rarity, as well as the contamination of inferior layers by eggs that came from superior layers. One hundred and one *sambaqui* samples previously examined were negative for parasite eggs, and therefore the hypothesis that the technique is another factor that contributes to this rarity must not be discarded. In order to test the percolation of *Ascaris lumbricoides* eggs in sediments from *sambaqui* Sernambetiba, Guapimirim municipality, RJ, three columns of undisturbed sediment derived from archaeological profiles with different sedimentary constitution were collected, with aluminum tubes, and stratigraphically documented. Samples of control sediments were also gathered. In the sediment columns, one million of *A. lumbricoides* eggs were introduced, weekly during a 45 days period for two times every week, 350 ml of distilled water were used for humidify the sediment. All the sediment from the layers was collected, based on the archaeostratigraphic profile, and 20g from each layer were separated for analysis. The efficiency of three techniques (spontaneous sedimentation, centrifugal-flotation with sugar,  $d=1300$ , and centrifugal-flotation with zinc sulphate 33%,  $d=1180$ ) was tested in the columns and sediments-control. Paleoparasitological research was also made in sediments derived from burial 1 from the same site and from layers from another *sambaqui*, the Guapi, from the same municipality. The introduced eggs were retained in the superior layers of the tubes reducing the chances of the inferior layers contamination, increasing safety of the paleoparasitological findings in *sambaquis*. In correspondent sediment-control of tube 1 (sandy) and 3 (clayey), as well as the sediment within the tube 3 were found ascarid-like eggs. In *sambaqui* Guapi sediments were found two eggs of Acanthocephala, one egg of Heterakoidea superfamily and one egg of Ascaridoidea superfamily. The percolation does not seem to be the responsible for the rarity of parasite eggs in sediments from *sambaquis*. Regarding the techniques tested, the spontaneous sedimentation and the centrifugal-flotation with sugar were more efficient in recovery of experimentally introduced eggs. The nonexperimental eggs found in the sediments of these *sambaquis* are the first findings in this kind of site in Rio de Janeiro.

Key-words: paleoparasitology, *sambaquis*, taphonomy, helminthiasis, *Ascaris lumbricoides*.

## SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	21
1.1.Paleoparasitologia.....	21
1.2.Sedimentos arqueológicos.....	22
1.3.Revisão bibliográfica de achados de vestígios de parasitos em sedimentos arqueológicos.....	23
1.4.Sambaquis.....	26
1.5.Revisão bibliográfica de achados de vestígios de parasitos em sedimentos provenientes de sambaquis, e de sítios de constituição semelhante ( <i>shell middens</i> ) e técnicas parasitológicas utilizadas.....	32
1.6.Fatores tafonômicos que podem interferir na preservação de ovos de parasitos em sítios do tipo sambaqui.....	33
2.ÁREAS DE ESTUDO.....	35
2.1.O Sambaqui Sernambetiba.....	35
2.2.O Sambaqui Guapi.....	38
3.OBJETIVOS.....	40
4.MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1.Experimento de Percolação.....	41
4.1.1.Coleta das colunas de sedimento arqueológico e sedimentos controle.....	41
4.1.2.Fixação dos tubos de alumínio e introdução de fezes contendo ovos de <i>A. lumbricoides</i> nos sedimentos destes tubos.....	53
4.1.3.Experimento de percolação: umedecimento do sedimento contido nos tubos de alumínio com água destilada e procedimentos de coleta.....	55

4.1.4. Análise do sedimento contido nos tubos de alumínio e dos sedimentos controle.....	59
4.2. Coleta e análise paleoparasitológica de sedimentos provenientes do sepultamento 1 ( <i>Locus</i> 2) do sambaqui Sernambetiba.....	62
4.3. Coleta e análise paleoparasitológica de sedimentos provenientes do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ.....	65
5. RESULTADOS.....	65
5.1. Experimento de percolação e análise de sedimentos controle.....	65
5.1.1. Sedimento captado pelos cálices de fundo cônico e funis localizados sob os tubos de alumínio.....	66
5.1.2. Sedimentos provenientes das camadas que constituíam os tubos de alumínio.....	68
5.1.2.1. Tubo 1 (sedimento arenoso).....	68
5.1.2.2. Tubo 2 (sedimento areno-argiloso).....	69
5.1.2.3. Tubo 3 (sedimento argiloso).....	70
5.1.2.4. Ovos de <i>A. lumbricoides</i> encontrados.....	72
5.1.3. Análise paleoparasitológica dos sedimentos controle.....	74
5.1.3.1. Sedimentos controle do Tubo 1 (arenoso).....	74
5.1.3.2. Sedimentos controle do Tubo 2 (areno-argiloso).....	77
5.1.3.3. Sedimentos controle do Tubo 3 (argiloso).....	77
5.2. Sepultamento 1 ( <i>Locus</i> 2) do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ.....	80
5.3. Análise paleoparasitológica de sedimentos provenientes das camadas bioturbada (superfície) e arqueológicas do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ.....	82

6.DISSCUSSÃO.....	85
7.CONCLUSÃO.....	92
REFERÊNCIAS.....	93
ANEXO 1- Quadros comparativos com os resultados finais obtidos nas análises dos sedimentos das camadas contidas nos tubos de alumínio 1, 2 e 3 e controles.....	103
ANEXO 2- Artigo publicado na revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz sobre a eficiência da técnica de sedimentação espontânea na recuperação dos ovos de parasitos no sedimento do sambaqui Guapi.....	105

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Experimento de percolação: registro diário dos volumes de água e eventuais sedimentos captados pelos cálices de fundo cônico e funis posicionados sob os tubos de alumínio, durante o período de umedecimento das colunas de solo arqueológico.....	57
Tabela 2 – Experimento de percolação: número de larvas e protozoários recuperados durante a análise dos sedimentos captados pelos cálices de fundo cônico e funis posicionados sob os tubos de alumínio no período referente ao umedecimento das colunas de solo arqueológico.....	67
Tabela 3 – Número de ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> recuperados pelas técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180) <sup>65</sup> , centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300) <sup>64</sup> e sedimentação espontânea <sup>61</sup> na análise dos sedimentos (20 g) de cada camada contida no tubo 1 (arenoso).....	69
Tabela 4 - Número de ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> recuperados pelas técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180) <sup>65</sup> , centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300) <sup>64</sup> e sedimentação espontânea <sup>61</sup> na análise dos sedimentos (20 g) de cada camada contida no tubo 2 (areno-argiloso).....	70
Tabela 5 - Número de ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> recuperados pelas técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180) <sup>65</sup> , centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300) <sup>64</sup> e sedimentação espontânea <sup>61</sup> na análise dos sedimentos (20g) de cada camada contida no tubo 3 (argiloso).....	72
Tabela 6 – Resultado das análises paleoparasitológicas dos sedimentos controle correspondentes ao tubo 1 (arenoso), realizadas com as técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180) <sup>65</sup> , centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300) <sup>64</sup> e sedimentação espontânea <sup>61</sup> .....	76

Tabela 7 - Resultado das análises paleoparasitológicas dos sedimentos controle correspondentes ao tubo 3 (argiloso), realizadas com as técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e sedimentação espontânea<sup>61</sup> .....79

Tabela 8 – Especificações relacionadas à coleta dos sedimentos controle e do sacro do sepultamento 1 (*Locus* 2) do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ e resultados das análises paleoparasitológicas.....81

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotografia do sambaqui Amourins localizado no município de Guapimirim, RJ. Foto: Gina Bianchini, Museu Nacional/ UFRJ.....	27
Figura 2 – Pisos de argila com buracos de estaca. Fotografia extraída de Pinto <sup>55</sup> . Autoria: MaDu Gaspar, Museu Nacional/ UFRJ.....	30
Figura 3 – Enterramento com lâmina de machado. Fotografia extraída de Tenório <sup>57</sup> .....	31
Figura 4 – Enterramento com acompanhamento de pingentes ósseos. Fotografia extraída de Tenório <sup>57</sup> .....	31
Figura 5 – Fotografia aérea do sambaqui Sernambetiba evidenciando sua proximidade com a rodovia. Fotografia cedida por Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ. Fonte: Google Earth.....	36
Figura 6 - Vista aérea do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ, no ano de 2002. Fotografia cedida por Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ. Fonte: Google Earth.....	37
Figura 7 – Fotografia de um dos perfis arqueológicos do sambaqui Sernambetiba com destaque para a estratigrafia. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ.....	38
Figura 8 – Fotografia do perfil zooantracológico do sambaqui Guapi. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ.....	39
Figura 9 – Fotografia do sambaqui Guapi (1973), município de Guapimirim, RJ. Fotografia cedida pela professora Sheila Mendonça de Souza, Departamento de Endemias Samuel Pessoa. Autoria: Milton Parnes.....	40
Figura 10 – Material utilizado para coleta de testemunhos de sedimento arqueológico para a realização do experimento de percolação. Foto: Morgana Camacho.....	42
Figura 11 – Fotografia do perfil arqueológico reservado para a coleta do tubo 1, com característica arenosa. Foto: Morgana Camacho.....	43

Figura 12 - Fotografia do perfil arqueológico reservado para a coleta do tubo 2, com característica areno-argilosa. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ.....	44
Figura 13 - Fotografia do perfil arqueológico reservado para a coleta do tubo 3, com característica argilosa. Foto: Morgana Camacho.....	45
Figura 14 – <i>Locus</i> 1 do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ, onde estão localizados os perfis arqueológicos pré-determinados para as coletas dos testemunhos e controles. Foto: Morgana Camacho.....	46
Figura 15 – Processo de coleta das colunas de sedimento arqueológico por meio da cravação de tubos de alumínio nos perfis arqueológicos do <i>Locus</i> 1 do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ. Foto: Morgana Camacho.....	46
Figura 16 – Tubo de alumínio contendo coluna de sedimento arqueológico indeformado. Destaque para a vedação nas partes superior e inferior do tubo. Foto: Morgana Camacho.....	47
Figura 17 – Esquema em papel milimetrado mostrando a espessura e constituição das camadas da coluna de sedimento presente no tubo 1 (arenoso). Autoria: Prof. Renato Ramos, Museu Nacional/UFRJ.....	48
Figura 18 – Esquema em papel milimetrado mostrando a espessura e constituição das camadas da coluna de sedimento presente no tubo 2 (areno-argiloso). Autoria: Prof. Renato Ramos, Museu Nacional/UFRJ.....	49
Figura 19 – Esquema em papel milimetrado mostrando a espessura e constituição das camadas da coluna de sedimento presente no tubo 3 (argiloso). Autoria: Prof. Renato Ramos, Museu Nacional/UFRJ.....	50
Figura 20 – Fotografia do perfil arqueológico após as coletas do tubo 1 (local em destaque) e sedimentos controle, coletados ao lado. Foto: Morgana Camacho.....	52
Figura 21 – Fotografia do perfil arqueológico após as coletas do tubo 2 (local em destaque) e sedimentos controle, coletados ao lado. Foto: Morgana Camacho.....	52
Figura 22 – Fotografia do perfil arqueológico após as coletas do tubo 3 (local em destaque) e sedimentos controle, coletados ao lado. Foto: Morgana Camacho.....	53

Figura 23 – Tubos de alumínio contendo colunas de sedimento arqueológico fixados à parede do laboratório para teste de percolação vertical de ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> . Foto: Victor Hugo Borba. ....	54
Figura 24 – Fezes introduzidas na superfície do sedimento contido nos tubos de alumínio fixados a parede para teste da percolação vertical dos ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> . Foto: Morgana Camacho.....	55
Figura 25 (A-D) – Fotografias dos tubos de alumínio abertos para início da coleta do sedimento. Aspecto do sedimento localizado no topo (A) e no centro (B) do tubo que possuía característica areno-argilosa; Fotografias do sedimento localizado no topo (C) do tubo que possuía característica arenosa e do sedimento localizado no topo do tubo que possuía característica argilosa (D). Foto: Morgana Camacho.....	58
Figura 26 – Fotografia do sepultamento encontrado no <i>Locus</i> 2 do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ. A seta indica o a localização do sepultamento na fotografia. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ.....	63
Figura 27 – Fotografia do sepultamento 1, localizado no <i>Locus</i> 2 do sambaqui Sernambetiba. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ.....	64
Figura 28 – Osso sacro aderido a última vértebra lombar do sepultamento 1. Foto: Morgana Camacho.....	64
Figura 29 – Possíveis larvas de vida livre encontradas nos sedimentos captados pelos cálices de fundo cônico durante o experimento de percolação. Foto: Morgana Camacho.....	66
Figura 30 – Ovo de ascarídeo encontrado na camada 4 (B), na análise dos sedimentos pela técnica de sedimentação espontânea <sup>61</sup> . Foto: Morgana Camacho.....	71
Figura 31 (A-G) – Fotografias de alguns dos ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> recuperados, mostrando as diferentes fases evolutivas encontradas. (A) 1-célula; (B) 2-células; (C) 3-células; (D) 4-células; (E) semelhante à mórula-jovem; (F) semelhante à larva 1 e (G) semelhante à larva 2, de acordo com Cruz e colaboradores <sup>81</sup> . Média das medidas dos ovos: 60,75 µm x 49,21 µm. Fotos: Cláudia Uchoa e Morgana Camacho.....	73

Figura 32 – Ovo de ascarídeo (89 $\mu\text{m}$ x 64 $\mu\text{m}$ ) encontrado em um dos sedimentos controle referentes ao tubo 1 (arenoso). Foto: Morgana Camacho.....	75
Figura 33 – Fotografia do perfil norte (antiga coluna zooantracológica) mostrando o local das coletas do tubo 1 (arenoso) e dos sedimentos controle referentes a este tubo. A seta indica o local de coleta do sedimento controle cuja análise pela técnica de sedimentação espontânea <sup>61</sup> resultou positiva para um ovo de ascarídeo. Foto: Morgana Camacho.....	75
Figura 34 A e B – Ovos de ascarídeo (98 $\mu\text{m}$ x 75 $\mu\text{m}$ ) encontrados nas primeiras camadas (bioturbada e 2 <sup>a</sup> camada acima da base – tabela 7) nas análises dos sedimentos controle do tubo 3 (argiloso), pela técnica de centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300) <sup>64</sup> . Foto: Morgana Camacho.....	78
Figura 35 (A e B) – Ovos de Acanthocephala encontrados em amostras de sedimentos provenientes de camadas arqueológicas do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ. Foto: Morgana Camacho e Thaíla Pessanha.....	83
Figura 36 – Ovo de Heterakoidea encontrado em amostra de sedimento provenientes de camadas arqueológicas do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ. Foto: Morgana Camacho.....	84
Figura 37 – Ovo de Ascaridoidea encontrado em amostra de sedimento provenientes de camadas arqueológicas do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ. Foto: Thaíla Pessanha.....	84

## LISTA DE ABREVIATURAS

aDNA: Ácido Desoxirribonucléico antigo

AP: Antes do Presente

C: Celsius

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

cm: Centímetro

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

d: Densidade

DENSP: Departamento de Endemias Samuel Pessoa

ENSP: Escola Nacional de Saúde Pública

FAPERJ: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz

g: Grama

IOC: Instituto Oswaldo Cruz

IPHAN: Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional

m: Metro

M: Molar

MIP: Departamento de Microbiologia e Parasitologia mm: Milímetros

ml: Mililitros

MN: Museu Nacional

n: Número

NaOH: Hidróxido de Sódio

opg: Ovos por grama de fezes

PRONEX: Programa de Apoio a Núcleos de Excelência

PVC: Policloreto de vinila

rpm: Rotações por minuto

SECA: Serviço de Gestão Acadêmica

UFF: Universidade Federal Fluminense

UFRJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro

$\mu$ l: Microlitro

$\mu$ m: Micrômetro

## 1 – INTRODUÇÃO:

### 1.1 – Paleoparasitologia:

A Paleoparasitologia é a ciência que estuda os parasitos em material arqueológico ou paleontológico. Tem como principal foco de estudo as relações parasito-hospedeiro-ambiente e sua evolução ao longo do tempo, desde os primórdios de seu estabelecimento. Por meio dos conhecimentos adquiridos com esta ciência também é possível detectar mudanças na capacidade de virulência e patogenicidade de parasitos, associado à evolução das civilizações, além de mutações que resultam da evolução da relação propriamente dita<sup>1</sup>. Esta ciência foi introduzida em 1978, no Brasil, e nomeada pelo Doutor Luiz Fernando Ferreira, pesquisador emérito da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ.

O primeiro estudo ligado à paleoparasitologia foi feito por Sir Marc Armand Ruffer<sup>2</sup>, quando encontrou ovos de *Schistosoma haematobium* nos rins de múmias egípcias, datadas de 3.200 anos AP. Foi ele mesmo quem desenvolveu técnicas de reidratação dos tecidos mumificados, a fim de possibilitar a pesquisa de parasitos e processos lesionais neste material. Mais tarde, outros pesquisadores deram continuidade à pesquisa paleoparasitológica utilizando coprólitos como objeto de estudo para busca de parasitos em material antigo. Foram encontrados alguns vestígios, tais como larvas e ovos de helmintos, porém em pequenas quantidades, pois ainda não existia uma técnica de reidratação própria para este material<sup>3</sup>. Somente a partir de 1960 foi possível iniciar de fato a pesquisa de parasitos em coprólitos, quando Callen e Cameron<sup>4</sup> adaptaram, a técnica de reidratação para recuperação de materiais dessecados que estavam armazenados em coleções de museus<sup>3</sup>. Desde então, diversos estudos têm sido feitos em diferentes fontes de material para o encontro de formas evolutivas de parasitos.

A paleoparasitologia utiliza como principais fontes de estudo os coprólitos, tecidos mumificados, sedimentos provenientes de latrinas, esqueletos e sítios a céu aberto, onde podem ser encontrados vestígios de parasitos<sup>5</sup>.

## 1.2 – Sedimentos arqueológicos:

Consiste na mistura de componentes minerais e orgânicos existentes no solo somados à matéria orgânica de origem fecal. Podem ser obtidos diretamente de enterramentos, ao serem retirados da pelve de esqueletos, de latrinas, ou ainda diretamente das camadas arqueológicas dos sítios, como por exemplo, de sambaquis<sup>6,7</sup>. Estes últimos são pouco estudados, devido à grande possibilidade de dispersão de vestígios parasitários<sup>6</sup>, principalmente em sítios arqueológicos a céu aberto. Segundo Bouchet e colaboradores<sup>7</sup> a diferenciação de sedimentos naturais para sedimentos que contenham matéria orgânica de origem fecal, pode ser feita pela análise paleoparasitológica deste material. Porém, mesmo obtendo resultado positivo, se torna difícil saber a qual hospedeiro pertence tais estruturas parasitárias. Este fato ocorre principalmente com sedimentos retirados diretamente de camadas arqueológicas e de latrinas ou estruturas semelhantes, usadas para recolher fezes.

Sedimentos de latrinas são restos de coprólitos que foram decompostos de maneira parcial e que apesar disso ainda possuem o conteúdo preservado. Neste material é possível recuperar ovos de helmintos, larvas de nematódeos ou até DNA antigo (aDNA)<sup>7</sup>.

Para a análise dos sedimentos provenientes da pelve de esqueletos é importante saber qual a posição em que o corpo foi enterrado, bem como se o sepultamento foi anteriormente alterado ou não<sup>7</sup>. Segundo Dittmar e Teegen<sup>8</sup> é importante retirar os sedimentos diretamente da cavidade formada pela inclinação do sacro, pois os restos fecais se depositam predominantemente neste local, caso o corpo seja enterrado em decúbito dorsal. Além do sedimento contido no osso sacro dos esqueletos, é importante salientar a necessidade de realizar coleta e análise de amostras controle, que são coletadas próximo ao crânio, nos espaços intervertebrais e fêmur<sup>9, 10</sup>. A coleta e análise de controles estão intimamente ligadas à confiabilidade dos resultados paleoparasitológicos à medida que é possível saber se eventuais ovos, larvas e cistos de parasitos encontrados na análise dos sedimentos provenientes do osso sacro, realmente pertenciam ao conteúdo intestinal do indivíduo ou se estes resultados são provenientes da contaminação do sedimento<sup>9</sup>.

### 1.3 – Revisão bibliográfica de achados de vestígios de parasitos em sedimentos arqueológicos:

Existem diversos trabalhos publicados, em paleoparasitologia, que relatam o achado de vestígios de parasitos em diversos sedimentos arqueológicos.

O primeiro foi publicado por Taylor<sup>11</sup>, que pesquisou sedimentos de uma fossa encontrada em um sítio arqueológico da cidade de Winchester, Inglaterra. Nestes sedimentos foram identificados grande número de ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *Dicrocoelium dendriticum*.

Pike<sup>12</sup> analisou amostra de solo de uma latrina próxima ao local de onde Taylor<sup>11</sup> coletou suas amostras para análise. Neste material foram encontrados ovos de *Ascaris* sp., *Trichuris* sp. e *Dicrocoelium dendriticum*, também em grande número.

Posteriormente, Greig<sup>13</sup> detectou ovos de *Ascaris* sp. e *Trichuris* sp. em sedimentos de uma latrina em Worcester, Inglaterra.

Reinhard e colaboradores<sup>14</sup> relataram ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, ancilostomídeo e *Taenia* sp. em sedimentos de duas latrinas recuperadas em duas casas, no sítio arqueológico de Queen Ann Square, localizado em Newport – RhodeIsland/Estados Unidos da América.

Nos sítios arqueológicos de Bean Down - Somerset e Union Terrace – York, Inglaterra, foram descritos ovos de *Ascaris* sp. e *Trichuris* sp.<sup>15</sup>

Bouchet<sup>16</sup> identificou ovos de *Ascaris* sp., *Trichuris* sp., oocistos de coccídios, *Heterakis* sp., *Capillaria* sp. e ovos semelhantes aos de ancilostomídeos em sedimentos de solo e fossas de sítios arqueológicos localizados na cidade de Oise, França.

A mesma pesquisadora relatou o encontro de ovos de *Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium* sp., *Trichuris* sp. e *Ascaris* sp. em uma fossa encontrada em um sítio arqueológico em Paris, França<sup>17</sup>. Posteriormente também relatou o achado de ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Fasciola hepatica*, *Toxocara* sp., *Acanthocephala*, *Heterakis* sp. e *Metastrongylus* sp., em sedimentos de latrinas descobertas em escavações no Grand Louvre, em Paris, França<sup>18</sup>.

Bouchet e colaboradores<sup>19</sup> analisaram sedimentos de solo que continham matéria orgânica de origem fecal, em um sítio na cidade de Jura, França, onde encontraram ovos de *Fasciola* sp. e de tricurídeos.

Bouchet e Paicheler<sup>20</sup> relataram o encontro de ovos de *Trichuris* sp., *Ascaris* sp., *Diphyllobothrium* sp. e *Schistosoma haematobium* em sedimentos de uma latrina na cidade de Montbéliard, na França. Em estudo posterior, Bouchet e colaboradores<sup>21</sup> encontraram ovos de *Schistosoma mansoni* nos mesmos sedimentos analisados no trabalho anteriormente citado.

Em sedimento de solo do sítio arqueológico Grande Grotte d'Arcy-sur-cure, em Yonne, França, foram encontrados ovos de *Ascaris* sp.<sup>22</sup>.

Horne e Tuck<sup>23</sup> analisaram sedimentos provenientes de uma latrina encontrada no sítio de Ferryland, localizado na península de Ávalon no Canadá e relataram o achado de ovos de *Ascaris* sp., *Trichuris* sp., *Taenia* sp. e *Dicrocoelium dendriticum*.

Rousset e colaboradores<sup>24</sup> descreveram ovos de *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* no sedimento retirado da pelve de um esqueleto adulto evidenciado no sítio arqueológico que atualmente se encontra sob o Hospital de Avicenne localizado na cidade de Bobigny, situada a nordeste de Paris.

Bouchet e colaboradores<sup>25</sup> encontraram ovos de *Ascaris* sp., *Fasciola hepatica*, tricurídeos e *Taenia* sp., em sedimentos provenientes de uma latrina no sítio Marly-Le-Roy, localizado na cidade de Yvelines, França.

No sedimento retirado da pelve do esqueleto de uma criança encontrada no sítio arqueológico de Zeto Point (ADK-011), localizado na Ilha Adak, no Alasca, foram encontrados ovos bem preservados de *Ascaris lumbricoides* e *Diphyllobothrium pacificum*<sup>26</sup>.

Faulkner e colaboradores<sup>27</sup> analisaram amostras de sedimentos de latrinas localizadas em um sítio arqueológico na cidade de Fayette, EUA e encontraram ovos de *Trichuris trichiura*.

Dommelier-Espejo<sup>28</sup> analisou sedimentos provenientes de camadas arqueológicas de três sítios na França e encontrou ovos de *Fasciola* sp. e *Capillaria* sp.

Em dois sítios arqueológicos localizados na Coreia do Sul, foram encontrados ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Clonorchis sinensis* e trematódeos não especificados, em sedimentos de fossas<sup>29</sup>.

Dittmar e Teegen<sup>8</sup> relataram ovos de *Fasciola hepática* e *Capillaria* sp. em sedimentos retirados da pelve de esqueletos humanos e de ruminantes, no sítio arqueológico Karsdorf 9, localizado no município de Karsdorf, Alemanha.

Matsui e colaboradores<sup>30</sup> relatam o achado de ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Clonorchis sinensis* e *Metagonimus yokogawai* em sedimentos de uma latrina encontrada no sítio Fujiwara Palace em Kashihara, Japão.

Dark<sup>31</sup> identificou ovos de *Trichuris* sp. em sedimentos de uma fossa encontrada em um sítio arqueológico localizado ao sul do País de Gales.

Fernandes e colaboradores<sup>32</sup> encontraram ovos de *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides* e *Capillaria* sp. em sedimentos de latrinas no sítio arqueológico de Raversijde, localizado ao norte da Bélgica.

Le Bailly e colaboradores<sup>33</sup> relataram o encontro de ovos de *Diphyllobothrium* sp. em amostras de sedimento de solo retiradas de sítios arqueológicos na Suíça e Alemanha.

Fugassa e Guichón<sup>34</sup> encontraram ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris* sp. e um oocisto de *Eimeria macusaniensis* ao analisarem sedimentos da pelve de dois esqueletos encontrados no sítio arqueológico Nombre de Jesús localizado em na província de Santa Cruz, Argentina.

No sítio Orejas de Burro 1, localizado a sudeste do campo vulcânico de Pali Aike, ao sul da província de Santa Cruz na Argentina, Fugassa e Barberena<sup>35</sup> coletaram e analisaram sedimentos recuperados de um esqueleto humano e de solo agregados ao sepultamento e encontraram ovos de tricurídeos não identificados, *Capillaria* sp., *Trichuris* sp., *Trichuris trichiura*, cestódeos e oocistos de *Eimeria macusanensis*.

Le Bailly e colaboradores<sup>36</sup> relatam o encontro de antígeno de *Entamoeba histolytica*, recuperado pela técnica de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) em sedimentos retirados da região abdominal de esqueletos recuperados do cemitério de Meadowlark localizado em Manhattan – Kansas nos EUA.

Fugassa e colaboradores<sup>37</sup> analisaram sedimento retirado do osso sacro de esqueletos provenientes dos sítios arqueológicos “Nombre de Jesús” (província de Santa Cruz – Argentina), “Las Mandíbulas” e “Caleta Falsa” (Terra do Fogo – Argentina) e descreveram ovos de *Ascaris* sp., *Ascaris lumbricoides*, *Capillaria hepatica* e *Capillaria* sp.

Reinhard e colaboradores<sup>38</sup> analisaram sedimentos de latrinas encontradas na cidade de San Bernardino, Califórnia e utilizadas no período de 1880 a 1930. Foram achados ovos de *T. trichiura*, *A. lumbricoides* e *Clonorchis sinensis*.

Seo e colaboradores<sup>39</sup> descreveram ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Clonorchis sinensis* e *Paragonimus westermani* em sedimentos recuperados próximos ao osso sacro e de solo agregado a sepultamentos encontrados em tumbas medievais coreanas.

Mitchell e colaboradores<sup>40</sup> analisaram amostras de sedimento de uma latrina da época medieval, na cidade de Acre, Israel e encontraram ovos de *A. lumbricoides* e *Diphyllobothrium latum*.

Le Bailly e colaboradores<sup>41</sup> detectaram ovos de *A. lumbricoides*, *T. trichiura* e *Taenia* sp. em sedimentos recuperados de uma trincheira localizada na região de Alsace (França) e construída por soldados alemães na época da I Guerra Mundial.

Jaeger e colaboradores<sup>42</sup> relatam o achado de ovos de *Trichuris* sp., *Ascaris* sp., um ovo de *Taenia* sp. e cistos de protozoários semelhantes a *Entamoeba* sp. em sedimentos retirados da região sacra de esqueletos encontrados no sítio arqueológico cemitério da Praça XV, localizado na cidade do Rio de Janeiro.

#### **1.4 – Sambaquis:**

São sítios arqueológicos construídos por grupos de pescadores-coletores, que habitaram parte do litoral brasileiro no período pré-colonial<sup>43,44</sup>. A palavra *sambaqui* é de origem Tupi e significa amontoado de conchas. Estes sítios estão distribuídos por quase toda a extensão da costa brasileira, podendo ser encontrados nas regiões Sul, Sudeste (até o estado da Bahia) e do Estado do Maranhão até o Pará<sup>45</sup>. Nestas localidades o clima é quente e úmido, e com alta pluviosidade, principalmente no verão,

porém no inverno as chuvas ainda são frequentes<sup>46</sup>. Possuem formato arredondado (Figura 1) com dimensões que podem ser consideradas relativamente pequenas chegando a 4 metros de altura, quando comparadas com as dimensões de alguns sambaquis que chegam a medir mais de 30m de altura e 500m de diâmetro, estes maiores encontrados principalmente no estado de Santa Catarina<sup>47</sup>.



**Figura 1** – Fotografia do sambaqui Amourins localizado no município de Guapimirim, RJ. Foto: Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ.

No início das pesquisas arqueológicas em sambaquis havia divergências entre os estudiosos da área a respeito da origem destes sítios. Em meados do século XIX pesquisadores se dividiam entre duas principais concepções de origem acerca dos sambaquis: a primeira “naturalista” e a segunda “artificialista”. Discussões abordando esta questão se estenderam até a metade do século XX. A vertente “naturalista” interpretava os sambaquis como formações naturais, resultantes do recuo e avanço do mar, além da ação dos ventos sobre as conchas que foram carreadas formando os amontoados. Seguindo esta perspectiva, os sambaquis eram estudados com uma visão geológica, sendo reconhecidos como “jazidas” naturais<sup>48</sup>. A principal função do estudo destas formações seria a determinação de alterações ambientais principalmente no que diz respeito a mudanças no nível do mar, para isso tinham em vista a localização destes sítios<sup>43,49</sup>. Com relação aos sepultamentos encontrados frequentemente nos sambaquis, os estudiosos favoráveis à ideia naturalista desenvolveram a chamada teoria dos naufrágios, que sugeria que os indivíduos encontrados teriam se afogado devido ao movimento de progressão do mar<sup>50</sup>.

A outra vertente que questionava a origem dos sambaquis era a “artificialista” na qual acreditava-se na influência antrópica na construção dos sambaquis<sup>43,44,49,50</sup>. Juntamente com a teoria “artificialista” duas concepções foram desenvolvidas sobre a construção dos sítios. A primeira consistia na ideia do sambaqui como local para acúmulo não-intencional de lixo sendo associado à falta de cuidados e até mesmo à preguiça de grupos que habitavam locais próximos. Os sambaquis foram comparados aos sítios conhecidos como *shell middens*, que são encontrados em outros países como, por exemplo, a Dinamarca e os Estados Unidos da América cuja construção está baseada no princípio do acúmulo de lixo. A segunda consistia na percepção do sambaqui como uma construção intencional, reflexo da cultura e organização social dos sambaquieiros que além de construí-los voltados para funções ritualísticas, os utilizavam como local de moradia<sup>48</sup>. Posteriormente, à medida que os estudos sobre os sambaquis iam se aprofundando, alguns estudiosos que apoiavam a vertente “naturalista” observaram ser geologicamente improvável a deposição natural dos sedimentos que constituem estes sítios. Assumindo a concepção “artificialista”, com o avanço nos estudos tornou-se mais plausível a teoria da construção intencional dos sambaquis, visto que a organização das camadas arqueológicas tornava impossível vê-los como construções não intencionais feitas meramente com restos de lixo depositados ao acaso<sup>49</sup>. A partir do aprofundamento dos conhecimentos observou-se que desempenhavam diversas funções, tais como, local de moradia, de enterramento dos indivíduos que os habitavam, de trabalho e de descarte de restos alimentares sendo reconhecidas estas características em todos os sambaquis. Estas funções deixam clara a associação cultural e social destes grupos sendo necessária a visualização dos mesmos como uma sociedade.

Atualmente estão registrados mais de mil sambaquis em toda a área litorânea do país, porém não representa o total de sítios que originalmente existia. A exploração de cal proveniente das conchas dos sambaquis e a própria expansão imobiliária, cuja construção se concentrou principalmente nos locais onde estes sítios estavam localizados, foram os grandes responsáveis pela diminuição do número de sambaquis existentes nos dias de hoje<sup>44</sup>. As oscilações marinhas são provavelmente outro fator responsável pela degradação e perda de sambaquis, devido aos movimentos de avanço e recuo do mar em relação à costa, que possivelmente submergiram alguns sítios<sup>51</sup>. Também é importante considerar a possível existência de sambaquis ainda não

descobertos e conseqüentemente não registrados juntos ao Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN).

Segundo Paz e Beltrão<sup>52</sup> a localização destes sítios era planejada, sempre associada a locais cujos ecossistemas possuíam recursos necessários para a subsistência dos sambaquieiros. Tendo em vista esta estratégia de ocupação, os sambaquis eram construídos próximos a baías, lagos, lagoas, mangues, entre outros, facilitando o acesso destes grupos a recursos alimentícios, tais como, moluscos, peixes, mamíferos aquáticos e terrestres e aves marinhas<sup>44,46,51</sup>. Vegetais também faziam parte da dieta desses grupos<sup>53</sup>, no entanto são dificilmente preservados o que torna escassa a sua ocorrência.

Ligado aos hábitos alimentares está o fato de que os sambaquieiros tinham o costume de juntar restos destes alimentos para a construção dos montes, aumentando sua dimensão de modo que se destacavam na paisagem<sup>45</sup>. Além de ossos de peixes e conchas de moluscos, eram utilizados como material construtivo areia e argila, que eram depositados em diferentes camadas organizadas de maneira sobreposta possuindo composição diferente umas das outras<sup>44</sup>. Existem indícios de que os sambaquis eram utilizados como local de moradia. A localização dos sítios próximos a corpos d'água que ofereciam oferta abundante de moluscos e peixes, além de outros recursos para a subsistência dos grupos é um dos fatores que auxiliam na construção deste pensamento. Durante os estudos arqueológicos nos sambaquis foram encontrados diversos artefatos de uso cotidiano e outros que claramente eram utilizados para sua confecção, o que indica uma atividade de trabalho intensa nestes sítios. O encontro de camadas de cinza e carvão associados a enterramentos ou mesmo como constituintes de camadas arqueológicas, além do achado de conchas de moluscos e ossos de animais queimados, leva a crer que os sambaquieiros tinham o costume de fazer fogueiras para fins ritualísticos e de cozimento de alimentos para consumo. O encontro de buracos de estacas em perfis arqueológicos e pisos de argila (Figura 2) também corrobora com esta hipótese, pois indicam a construção de cabanas que poderiam servir para fins diversos<sup>54</sup>. Além disso, ainda não foram encontrados indícios de que estes grupos habitavam outro local<sup>45</sup>.



**Figura 2** – Pisos de argila com buracos de estaca. Fotografia extraída de Pinto<sup>55</sup>.  
Autoria: MaDu Gaspar, Museu Nacional/UFRJ.

Além da função de moradia, os sambaquis eram destinados a atividades ritualísticas, servindo como local de sepultamento de indivíduos de ambos os sexos e diferentes idades. Um grande número de enterramentos foi retirado de sambaquis estudados ao longo de todo litoral brasileiro, indicando que este grupo tinha o costume de enterrar todos os membros do grupo no sítio<sup>55</sup>. Muitos dos esqueletos eram enterrados com adornos e artefatos de uso cotidiano, como por exemplo, lâminas de machado, pontas ósseas, quebra coquinhos, entre outros, talvez indicando o uso pessoal de cada objeto pelo morto (Figuras 3 e 4)<sup>51</sup>, além do frequente achado de vértebras de peixes articuladas e conchas de moluscos fechadas, que provavelmente foram ali depositados, porém não consumidos<sup>56</sup>. Colares feitos de conchas, dentes de tubarão perfurados e outros adornos também eram utilizados, além de corantes vermelhos produzidos a partir do ocre<sup>57</sup>.



**Figura 3** – Enterramento com lâmina de machado. Fotografia extraída de Tenório<sup>57</sup>.



**Figura 4** – Enterramento com acompanhamento de pingentes ósseos. Fotografia extraída de Tenório<sup>57</sup>.

### **1.5 - Revisão bibliográfica de achados de vestígios de parasitos em sedimentos provenientes de sambaquis, e de sítios de constituição semelhante (*shell middens*) e técnicas parasitológicas utilizadas:**

Existem poucos achados de vestígios de parasitos em material arqueológico proveniente de sambaquis ou *shell middens*.

Bouchet e colaboradores<sup>58</sup> encontraram ovos de *Diphyllobothrium* spp. e ancilostomídeos em um *shell midden* do Alasca, utilizando suspensão em água glicerinada a 0,5% seguido de técnicas de sedimentação e flutuação.

Em outro *shell midden* localizado no Canadá, Bathurst<sup>59</sup> encontrou ovos de *Diphyllobothrium* spp., *Ascaris lumbricoides*, *Nanophyetus salmincola* e de cestódeos, utilizando técnica de centrifugação e realizando análise do sobrenadante.

Teixeira-Santos<sup>60</sup> encontrou um ovo de *Trichuris* sp. no sedimento da pelve de um sepultamento encontrado no sambaqui Cubatão I, localizado em Santa Catarina, utilizando a técnica de sedimentação espontânea descrita por Lutz<sup>61</sup>.

Seguindo a análise por biologia molecular e com isso confirmando o achado de Teixeira-Santos<sup>60</sup>, Leles<sup>62</sup> encontrou fragmentos de material genético de *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* em sedimentos retirados da pelve de outro sepultamento encontrado no mesmo sítio arqueológico.

Desde o início das análises realizadas no laboratório de paleoparasitologia DENSP/ENSP/FIOCRUZ, cento e vinte e uma amostras de sambaquis de diferentes localidades foram encaminhadas e analisadas pela técnica descrita por Caldwell e Caldwell<sup>63</sup> recomendada para recuperar ovos de parasitos em solo com característica arenosa, argilosa, entre outras. Esta técnica envolve o uso de solução de hipoclorito de sódio para liberar os ovos do solo, solução de açúcar de densidade elevada para flutuar os ovos e um frasco pequeno para removê-los da superfície. Apesar da recomendação para análise parasitológica de tipos de sedimento semelhantes ao encontrado em sambaquis, todos os resultados foram negativos para ovos de parasitos.

Em suas análises, Teixeira-Santos<sup>60</sup> utilizou a técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup>, recomendada para a análise de material fecal. A partir deste resultado positivo obtido com uma técnica não específica para a recuperação de ovos de parasitos

em sedimentos, pode-se considerar que um dos motivos para a raridade de registros de achados de parasitos em material proveniente de sambaquis seja a falta de tentativas de análises parasitológicas com utilização de outras técnicas parasitológicas.

Por este motivo e partindo-se desta hipótese, neste trabalho pesquisou-se a eficiência de três técnicas diferentes na recuperação de ovos de parasitos em análises paleoparasitológicas feitas em sedimentos arqueológicos retirados de perfis arqueológicos de dois sambaquis do Rio de Janeiro. As técnicas envolvidas neste trabalho são: sedimentação espontânea<sup>61</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup>.

#### **1.6 – Fatores tafonômicos que podem interferir na preservação de ovos de parasitos em sítios do tipo sambaqui:**

Os achados de ovos de parasitos em sambaquis e em sítios que possuem constituição semelhante (*shell middens*) são muito raros<sup>58,59,60,62</sup>. Estudos a respeito do paleoclima da região litorânea do país revelam um ambiente úmido e com pouca variação de temperatura, condição também presente nos dias de hoje<sup>66,67</sup>. Especificamente sobre a região da Baía de Guanabara, Herédia e Beltrão<sup>46</sup> relatam uma condição de clima quente e úmido, com registros pluviométricos altos e frequentes, principalmente na estação do verão, porém presente nas demais estações do ano. Durante estes períodos de chuva ocorrem alagamentos e transbordamentos de rios, o que provavelmente deveria ocorrer de maneira mais acentuada no período de ocupação dos sambaquieiros nesta região<sup>46</sup>. Os sambaquis estão situados ao longo de grande parte da costa brasileira, sendo os sítios Sernambetiba e Guapi localizados no entorno da Baía de Guanabara. Por estarem localizados nesta região e próximos a corpos d'água que sofrem períodos de cheia, estes sambaquis estão submetidos a períodos de alagamento.

Segundo Neto<sup>68</sup> a percolação nada mais é do que a passagem de líquidos por um sistema sólido disperso, como por exemplo, o solo. É provável que este fenômeno, por ser intensificado pelas condições existentes nos locais em que os sambaquis estão situados, poderia ser a causa do desaparecimento dos ovos e conseqüentemente da raridade de achados nestes sítios. Desta forma, os ovos de parasitos ou outros vestígios poderiam ser carreados de maneira multidirecional entre as camadas dos sambaquis.

Além disso, o carreamento dos ovos de parasitos das camadas superiores para as inferiores e vice-versa acarretaria na contaminação do sedimento causando interpretações errôneas a respeito da antiguidade do achado. Apesar deste fato ser considerado como justificativa para a ausência ou raridade de vestígios de parasitos neste tipo de sítio, até o momento não havia sido feito nenhum estudo que comprovasse a provável interferência da percolação da água no desaparecimento dos ovos em sambaquis.

Além da percolação, outros fatores tafonômicos poderiam interferir na preservação destes vestígios de parasitos. A estabilidade de temperatura e umidade, oferecida neste ambiente, pode proporcionar a proliferação da biodiversidade de microrganismos que habitam o sedimento deste sítio. Estes microrganismos interferem na preservação da matéria orgânica desde sua deposição no solo até o momento de coleta e armazenamento deste material<sup>69</sup>. Existem trabalhos que relatam a interferência de fungos coprofágicos e nematofágicos na preservação dos vestígios de parasitos<sup>62,70,71,72</sup>.

Ambos os temas são abrangentes e complexos individualmente e por isso são necessários estudos isolados para compreender o quanto cada variável citada interfere no desaparecimento dos vestígios de parasitos. Por isso, neste trabalho foi pesquisada a questão da percolação como principal fator tafonômico que contribui para desaparecimento de vestígios de parasitos.

Esta dissertação está inserida no contexto do subprojeto “Estudo de infecções parasitárias em populações dos sambaquis brasileiros” coordenado pelo Dr. Adauto Araújo e incluído no PRONEX 2010 - FAPERJ/CAPES “Sambaquis: médios, grandes e monumentais: Estudo sobre as dimensões dos sítios arqueológicos e seu significado social” coordenado pela Dra. Maria Dulce Gaspar, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

## 2 – ÁREAS DE ESTUDO

### 2.1 – O Sambaqui Sernambetiba:

O sambaqui Sernambetiba está localizado no município de Guapimirim, RJ, às margens da Rodovia BR-493, que liga Magé a Itaboraí (Figura 5). Situa-se em uma planície aluvial, que é constituída pela deposição de sedimentos pelos rios que descem da Serra do Mar<sup>46</sup>. Está a dois quilômetros do rio Guapi-Mirim, que desemboca no oceano e forma com ele um ambiente de mangue praticamente intocado pelo homem.

Possuía formato arredondado com 100 m de comprimento, 80 m de largura e 5 m de altura<sup>46</sup>, porém, justamente pela construção da BR-493, a parte Norte deste sítio foi parcialmente destruída<sup>73</sup>. Situado dentro dos limites da Fazenda Santa Inês, de propriedade do Grupo Sendas, passou por diversas modificações em sua morfologia, resultado de ações contemporâneas. Foi terraplenado devido à construção da rodovia, sendo depois utilizado por longo tempo para benfeitorias realizadas para benefício da propriedade rural na qual estava situado. Foram construídos sobre o sítio, currais e um galpão de alvenaria que abrigava grandes máquinas cuja função era voltada para o processamento de cereais<sup>52</sup>. Durante décadas foi desmatado e desprovido das camadas mais superficiais. Atualmente, as construções que existiam sobre o sítio foram demolidas, porém ainda existem vestígios de sua existência, pois pode-se visualizar restos de alvenaria e azulejos por toda a extensão do sambaqui. Esta descrição, associada à presença atual de restos construtivos, e vários tipos de perturbações causadas pela ocupação do local nas últimas décadas, inclusive a instalação de latrina, permite concluir a possibilidade de contaminação na área arqueológica.

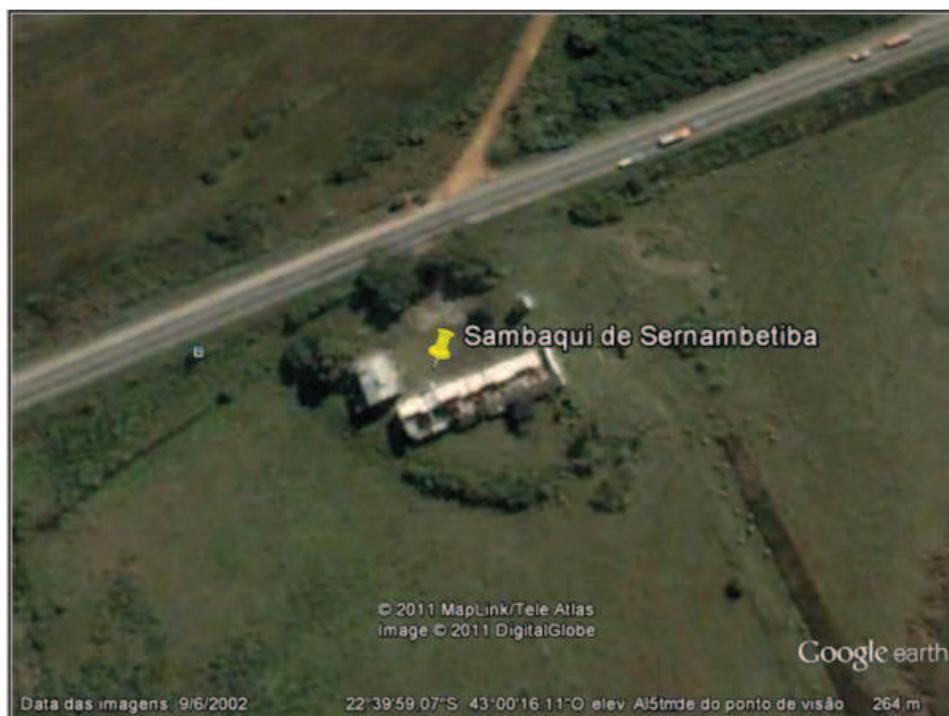
As datas calibradas para este sambaqui são 1960±70 AP – material carvão (Laboratório Beta Analytic)<sup>74</sup>, 2160±60 AP, 2290±60 AP e 2510±60 AP – material concha (Laboratório CENA/USP)<sup>75</sup> e 1800±40 AP – material carvão, amostra Beta 259895 (Laboratório Beta Analytic) e 1920±70 AP – material semente, amostra Beta 259894 (Laboratório Beta Analytic)<sup>56</sup>, porém Beltrão e colaboradores<sup>73</sup> sugerem o início da ocupação há pelo menos 5000 anos.

Segundo Beltrão e colaboradores<sup>76</sup> o sítio teria servido também para ocupação tardia por grupos ceramistas e após a chegada dos europeus ao estado do Rio de Janeiro (Figura 6). A estratigrafia das camadas mais superficiais deste sítio apresenta

fragmentos de metal e cerâmica atual e indígena, tendo características de material redepositado. As cerâmicas indígenas encontradas não possuíam evidências que permitissem identificar algum grupo indígena em especial. Estes achados se estendem por pelo menos 1 m de profundidade<sup>73</sup>.



**Figura 5** – Fotografia aérea do sambaqui Sernambetiba evidenciando sua proximidade com a rodovia. Fotografia cedida por Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ. Fonte: Google Earth.



**Figura 6** - Vista aérea do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ, no ano de 2002. Fotografia cedida por Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ. Fonte: Google Earth.

A partir de aproximadamente 1 m abaixo da camada perturbada, está evidenciado o sambaqui caracterizado por Beltrão e colaboradores<sup>73</sup> como *stricto sensu*. Este sambaqui é composto por linhas de carvão, que indicam fogueiras. O encontro de conchas de moluscos trituradas ou inteiras e a organização de suas camadas indica homogeneidade na construção deste sambaqui (Figura 7). Estas conchas nada mais são do que os restos alimentares ou rituais utilizados pelos sambaquieiros na confecção das diferentes camadas estratigráficas. Dentre os principais moluscos utilizados, estão as espécies de bivalves: *Crassostrea rhizophorae*, *Ostrea puelchana*, *Anomalocardia brasiliiana* (berbigão), *Lucina pectinata*, *Tagelus divisus* e gênero *Mytilus* spp. ou *Modiolus* spp. Os gastrópodos encontrados são todos de pequeno tamanho: *Bulla striata*, *Nassarius vibex*, *Cerithium atratum* e *Neritina virginea*<sup>46,77</sup>. Alguns ossos de peixes, mamíferos e aves também são encontrados, porém em pouca quantidade, assim como restos vegetais. Estes achados evidenciam a grande variedade de recursos que eram explorados por este grupo<sup>73</sup>.

Tão importante quanto estes achados é a constatação da existência de estacas que segundo Heredia e Beltrão<sup>46</sup> indicam a construção de cabanas e confirmam, portanto, a

utilização deste sítio como moradia. Recentemente este sambaqui voltou a ser escavado e com isso foi encontrado um esqueleto que também é objeto de estudo deste projeto.



**Figura 7** – Fotografia de um dos perfis arqueológicos do sambaqui Sernambetiba com destaque para a estratigrafia. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ.

## 2.2 – O Sambaqui Guapi:

Assim como o sambaqui Sernambetiba, o sambaqui Guapi também está localizado no município de Guapimirim, RJ, às margens do rio Guapi<sup>56</sup>. Trata-se hoje de uma formação pequena e com estrutura muito perturbada (Figura 8) inclusive pela construção de curral e casas no local. Quando cadastrado na década de 1980 por Mendonça de Souza e Mendonça de Souza<sup>78</sup> possuía cerca de 2000 m<sup>2</sup> de extensão estando a parte mais alta do montículo a 4 m de altitude, mas sua camada arqueológica de fato seria pouco espessa (Figura 9). Este sítio não foi escavado, e para o projeto PRONEX foi feito em 2010, a abertura de um dos perfis aparentes para estudo (Figura 8).



**Figura 8** – Fotografia do perfil zooantracológico do sambaqui Guapi. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ.



**Figura 9** – Fotografia do sambaqui Guapi (1973), município de Guapimirim, RJ. Fotografia cedida pela professora Sheila Mendonça de Souza, Departamento de Endemias Samuel Pessoa. Autoria: Milton Parnes.

### **3 – OBJETIVOS:**

**GERAL:** Investigar o fenômeno da percolação da água e sua influência na perda ou dispersão de ovos de *Ascaris lumbricoides* em testemunhos indeformados de sedimento arqueológico do sambaqui Sernambetiba, Município de Guapimirim, RJ.

#### **ESPECÍFICOS:**

- 1) Realizar análise paleoparasitológica em sedimentos controle provenientes dos perfis arqueológicos correspondentes ao local de coleta dos testemunhos utilizados no experimento de percolação;
- 2) Testar a eficiência das técnicas parasitológicas de sedimentação espontânea<sup>61</sup>, flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup> na

recuperação dos ovos de *A. lumbricoides* experimentalmente introduzidos nos testemunhos de solo arqueológico utilizados no experimento de percolação e também nas análises paleoparasitológicas dos sedimentos controle;

- 3) Observar o comportamento da percolação dos ovos em relação à constituição das camadas arqueológicas;
- 4) Realizar a análise de sedimentos provenientes da pelve e de controles do Sepultamento 1 (*Locus* 2) do sambaqui de Sernambetiba;
- 5) Realizar pesquisa paleoparasitológica em sedimentos provenientes do perfil arqueológico do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ.

#### **4 – MATERIAIS E MÉTODOS:**

##### **4.1 – Experimento de Percolação:**

###### **4.1.1– Coleta das colunas de sedimento arqueológico e sedimentos controle:**

O sambaqui Sernambetiba foi visitado no mês de Janeiro de 2012 pelas equipes do Museu Nacional/UFRJ e do laboratório de Paleoparasitologia - DESNP/ENSP/FIOCRUZ. O geólogo professor doutor Renato Ramos do Departamento de Geologia e Paleontologia do Museu Nacional/UFRJ esteve presente durante as fases de elaboração e coleta dos testemunhos de sedimento arqueológico. Para os procedimentos de coleta foram utilizados três tubos de alumínio com dimensões de 0,5 m de comprimento e 10,5 cm de diâmetro, uma barra de madeira com 0,5 m de comprimento, uma marreta e tampas de PVC para vedar as porções superior e inferior dos tubos de alumínio a fim de possibilitar o transporte ao laboratório (Figura 10).



**Figura 10** – Material utilizado para coleta de testemunhos de sedimento arqueológico para a realização do experimento de percolação. Foto: Morgana Camacho.

Com o objetivo de testar a percolação vertical de ovos de *A. lumbricoides* experimentalmente introduzidos em colunas de sedimentos arqueológico e observar o comportamento da percolação dos ovos em relação à constituição das camadas arqueológicas foram escolhidos, previamente à coleta, perfis arqueológicos que continham camadas com características de constituições diferentes entre si, sendo o primeiro perfil arenoso, reservado para a coleta do **tubo 1** (Figura 11), o segundo areno-argiloso, reservado para a coleta do **tubo 2** (Figura 12) e o terceiro argiloso, reservado para a coleta do **tubo 3** (Figura 13). Os perfis estão localizados no *Locus 1* (Figura 14) do sambaqui Sernambetiba em diferentes profundidades, estando o mais arenoso próximo ao topo do sítio (perfil Norte - antigo perfil zooantracológico), o areno-argiloso próximo a parte central (perfil Norte - rampa – 4 m – 6 m) e o argiloso na base do *Locus* (perfil sul – área de investigação da base). Os perfis arqueostratigráficos correspondentes aos perfis pré-determinados para a realização das coletas dos testemunhos e dos controles estão demonstrados nas figuras 15,16 e 17.



**Figura 11** – Fotografia do perfil arqueológico reservado para a coleta do tubo 1, com característica arenosa. Foto: Morgana Camacho.



**Figura 12** - Fotografia do perfil reservado para a coleta do tubo 2, com característica areno-argilosa. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional/UFRJ.

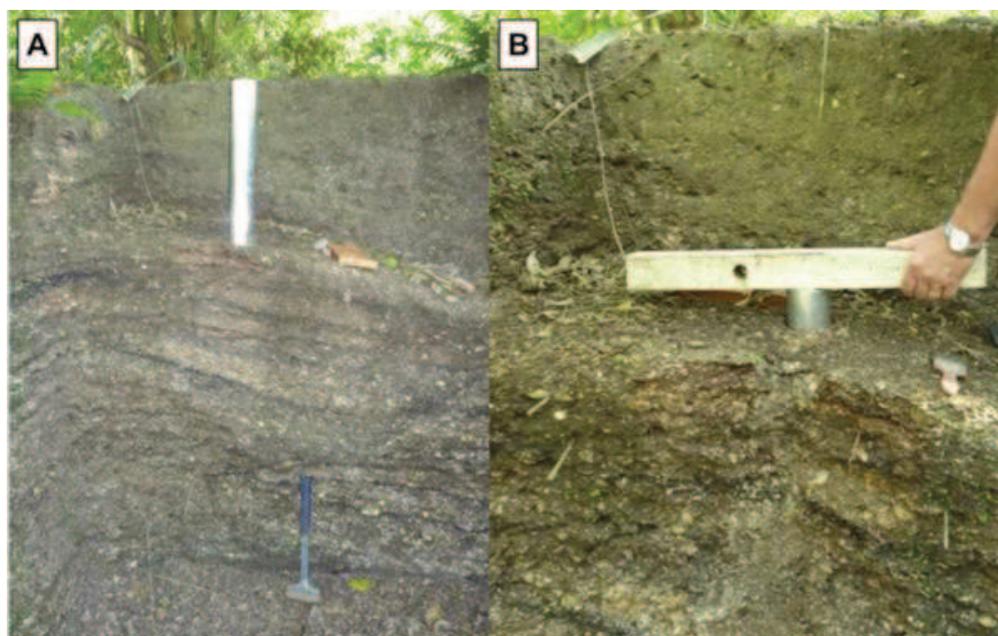


**Figura 13** - Fotografia do perfil arqueológico reservado para a coleta do tubo 3, com característica argilosa. Foto: Morgana Camacho.

A coleta dos sedimentos foi feita por meio da cravação dos tubos de alumínio nos perfis previamente determinados. Cada tubo de alumínio foi colocado em cima dos perfis correspondentes e cravados com o auxílio da marreta. A barra de madeira foi utilizada com a finalidade de atuar como apoio para a marreta e também para impedir que a borda superior do tubo se amassasse durante o processo (Figura 15).



**Figura 14** – *Locus* 1 do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ, onde estão localizados os perfis arqueológicos pré-determinados para as coletas dos testemunhos e controles. Foto: Morgana Camacho.



**Figura 15** – Processo de coleta das colunas de sedimento arqueológico por meio da cravação de tubos de alumínio nos perfis arqueológicos do *Locus* 1 do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ. Foto: Morgana Camacho.

Após a realização da coleta, os tubos de alumínio foram vedados com o auxílio das tampas de PVC e lacrados com fitas adesivas ao redor das tampas para o transporte ao laboratório. Em seguida foram identificados de acordo com o perfil do qual foram retirados e a direção da base e do topo de cada tubo (Figura 16). O professor Renato Ramos elaborou esquemas em papel milimetrado dos perfis arqueológicos de onde foram retiradas as colunas de sedimento, a fim de detalhar a composição do sedimento e a espessura de cada camada arqueológica que constituía as colunas presentes nos tubos (Figuras 17, 18 e 19).



**Figura 16** – Tubo de alumínio contendo coluna de sedimento arqueológico indeformado. Destaque para a vedação nas partes superior e inferior do tubo. Foto: Morgana Camacho.

HEREDIA SUP  
 COORD. 22° 39' 57,3" S  
 43° 00' 12,8" W  
 DATUM SAD 69  
 ERRO ± 7mm

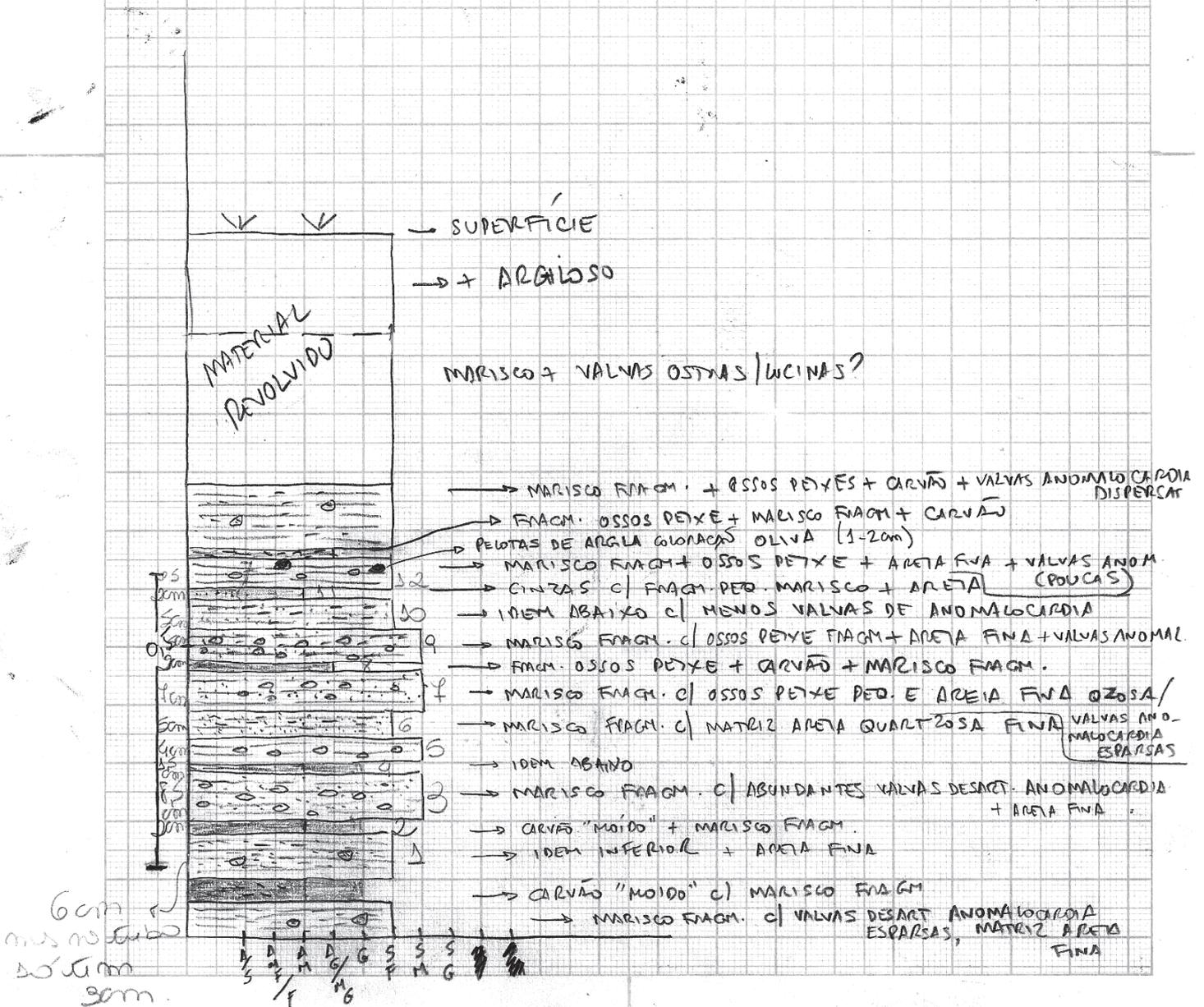
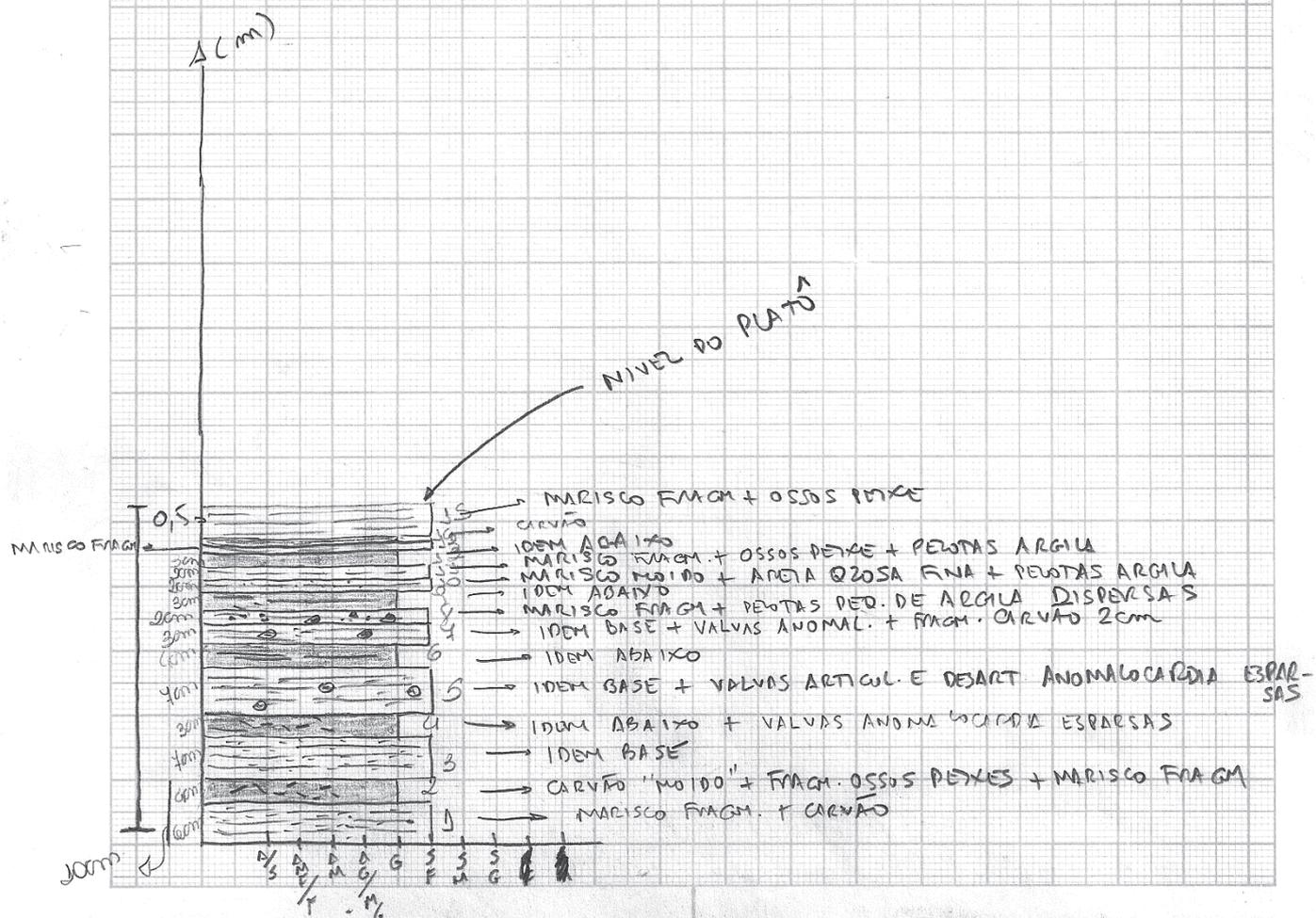


Figura 17 – Esquema em papel milimetrado mostrando a espessura e constituição das camadas da coluna de sedimento presente no tubo 1 (arenoso). Autoria: Prof. Renato Ramos, Museu Nacional/UFRJ.

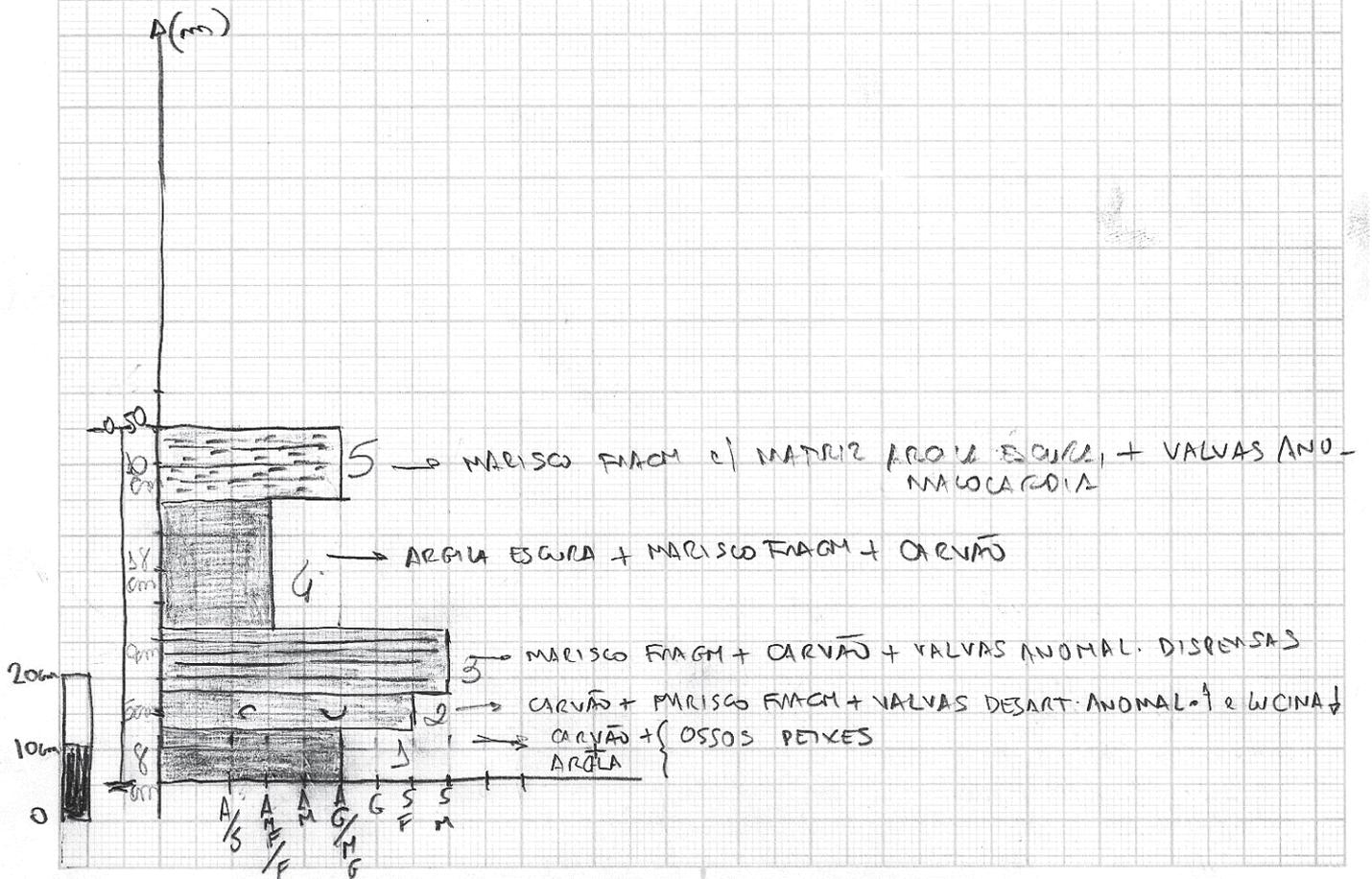
escala 1:30

# HÉREDA MÉDIO



**Figura 18** – Esquema em papel milimetrado mostrando a espessura e constituição das camadas da coluna de sedimento presente no tubo 2 (areno-argiloso). Autoria: Prof. Renato Ramos, Museu Nacional/UFRJ.

# HIERÉDIA INFERIOR



**Figura 19** – Esquema em papel milimetrado mostrando a espessura e constituição das camadas da coluna de sedimento presente no tubo 3 (argiloso). Autoria: Prof. Renato Ramos, Museu Nacional/UFRJ.

Posteriormente, iniciaram-se as coletas relacionadas aos controle do experimento de percolação, tendo em vista a investigação da possível presença de ovos de *A. lumbricoides* que pudessem existir nas camadas arqueológicas dos perfis que foram selecionados para o experimento. Estas coletas foram feitas imediatamente ao lado das coletas feitas com os tubos de alumínio, distando aproximadamente 10 cm. Com a orientação de arqueólogos do Museu Nacional/UFRJ as camadas bioturbada (topo do perfil) e arqueológicas de cada perfil foram identificadas e demarcadas com palitos de plástico coloridos. O material de coleta utilizado era descartável e constituído de luvas, colheres plásticas e palitos de madeira. Os tubos de alumínio possuíam 0,5 m de comprimento, sendo assim, não atingiam toda a altura do perfil, exceto no tubo 3 (sedimento argiloso), cujo perfil possuía a mesma altura do tubo de alumínio. As coletas foram feitas em todas as camadas de cada perfil, não sendo apenas delimitadas pela altura das coletas com os tubos (Figuras 20, 21 e 22). Os perfis foram limpos com colheres de pedreiro e posteriormente palitos de madeira descartáveis. O sedimento de cada camada foi coletado a profundidades que variavam entre 8 cm e 12 cm, a fim de evitar ou ao menos minimizar a contaminação. Ao final das coletas, o sedimento foi armazenado em sacos plásticos com fecho hermético, identificados de acordo com o perfil do qual pertenciam e a camada do qual foram retirados.



**Figura 20** – Fotografia do perfil arqueológico após as coletas do tubo 1 (local em destaque - seta) e sedimentos controle, coletados ao lado. Foto: Morgana Camacho.



**Figura 21** – Fotografia do perfil arqueológico após as coletas do tubo 2 (local em destaque - seta) e sedimentos controle, coletados ao lado. Foto: Morgana Camacho.



**Figura 22** – Fotografia do perfil arqueológico após as coletas do tubo 3 (local em destaque - seta) e sedimentos controle, coletados ao lado. Foto: Morgana Camacho.

#### **4.1.2 – Fixação dos tubos de alumínio e introdução de fezes contendo ovos de *A. lumbricoides* nos sedimentos destes tubos:**

Após o transporte dos tubos e sedimentos controle para o laboratório, iniciou-se o processo de preparação dos tubos de alumínio para o experimento de percolação.

As tampas de PVC foram retiradas das extremidades dos tubos e uma malha de nylon triplamente dobrada foi colocada na parte inferior de cada um dos três tubos, a fim de impedir que o sedimento caísse ao fixar os tubos verticalmente. Os tubos foram fixados um ao lado do outro com o auxílio de garras de ferro e parafusos em uma parede do laboratório, a fim de viabilizar o teste relacionado à percolação vertical dos ovos de *A. lumbricoides* (Figura 23). Foram colocados, abaixo de cada tubo, cálices de fundo cônico associados a funis para a captação de água e sedimentos que eventualmente caíssem durante o experimento de percolação.



**Figura 23** – Tubos de alumínio contendo colunas de sedimento arqueológico fixados à parede do laboratório para teste de percolação vertical de ovos de *Ascaris lumbricoides*. Foto: Victor Hugo Borba.

Concomitantemente pequenos volumes fecais (aproximadamente 1,5 g) contendo ovos de *A. lumbricoides*, foram homogeneizados para obter uma grande quantidade de ovos. Após a homogeneização, o volume fecal final foi pesado em balança, totalizando 24,3 g de fezes.

Foi separado 1 g de fezes para quantificação pela técnica de Stoll<sup>79</sup> modificada<sup>80</sup>, que consistiu em adicionar 14 ml de solução de Hidróxido de Sódio (NaOH) 0,1 M em tubo plástico graduado de fundo cônico e tampa de rosca, e em seguida acrescentar quantidade de fezes necessária para atingir o nível de 15 ml. Após fechado, o tubo foi agitado e deixado em repouso por um período de 12 horas. A coleta de 150  $\mu$ l foi feita no centro do tubo, depositada em lâmina e coberta com lamínula de 24 mm x 50 mm. Após quantificar por três vezes os ovos de *A. lumbricoides* contidos nos 150  $\mu$ l coletados foi feito o cálculo pré-estabelecido na descrição da técnica. A média dos valores encontrados nas três quantificações foi multiplicada por 100. Posteriormente, houve a necessidade de realizar cálculo para correção concernente à consistência das fezes, indicado por De Carlli<sup>80</sup> e contido na técnica original descrita por Stoll<sup>79</sup>. As fezes possuíam consistência pastosa-diarreica necessitando multiplicar o número encontrado

no cálculo anterior por 3 resultando em um número final de 463.800 ovos por grama de fezes (opg).

Em cada um dos tubos já fixados à parede foram experimentalmente introduzidos 2 g de fezes contendo aproximadamente 1.000.000 de ovos de *A. lumbricoides*. Para isso as fezes foram pesadas em balança sobre papel vegetal e depositadas na superfície de cada tubo juntamente com o papel vegetal (Figura 24).



**Figura 24** – Fezes introduzidas na superfície do sedimento contido nos tubos de alumínio fixados a parede para teste da percolação vertical dos ovos de *Ascaris lumbricoides*. Foto: Morgana Camacho.

#### **4.1.3 – Experimento de percolação: umedecimento do sedimento contido nos tubos de alumínio com água destilada e procedimentos de coleta:**

Imediatamente após a introdução das fezes iniciou-se o umedecimento do sedimento contido nos tubos. Trezentos e cinquenta mililitros (equivalente ao volume comportado por um cálice de fundo cônico) foram utilizados para umedecer o sedimento durante o período de 45 dias, duas vezes por semana em dias intercalados. Para tanto, os 350 ml de água destilada foram medidos com o auxílio de uma proveta e depositados lentamente (de forma a simular a precipitação da chuva) no sedimento de cada tubo utilizando-se um regador. A cada processo de umedecimento, os cálices de fundo cônico e funis associados eram trocados e identificados de acordo com os

respectivos tubos de alumínio. A água e eventuais sedimentos que fossem depositados nos cálices de fundo cônico foram coletados e o volume de água recuperado era medido.

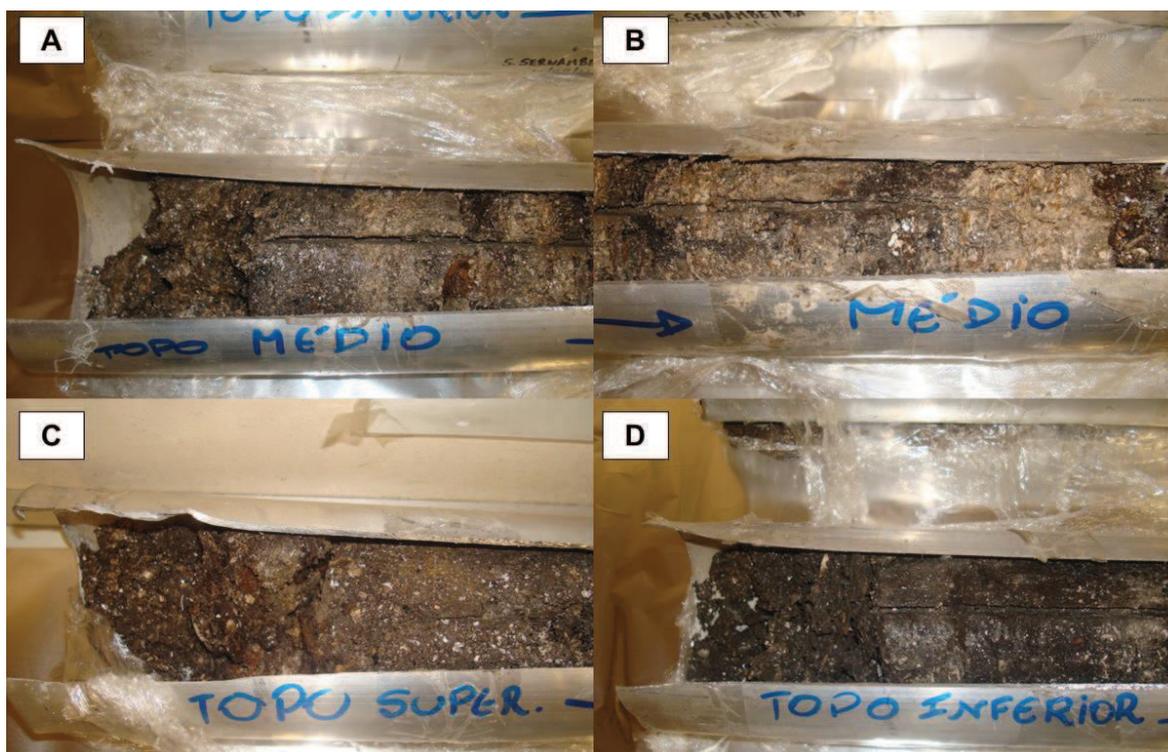
Após um período mínimo de duas horas a coleta dos sedimentos captados pelos cálices foi feita com o auxílio de peras e pipetas de vidro graduadas, que eram substituídas a cada coleta. O sedimento coletado foi então transferido para tubos de plástico com tampa de rosca, fundo cônico e graduação. Estes tubos foram identificados de acordo com o dia em que o sedimento dos tubos de alumínio foi umedecido e de qual dos tubos pertencera aquele sedimento. Em seguida foram armazenados em ambiente refrigerado e analisados durante o período de realização do experimento. Ao término da coleta dos sedimentos, o volume de água captado pelos cálices contidos embaixo de cada tubo de alumínio foi medido com o auxílio de uma proveta. O valor total do volume de água de cada dia foi obtido com o somatório da água que permanecera nos cálices de fundo cônico e da água que havia sido pipetada juntamente com o sedimento e armazenada nos tubos de plástico com tampa de rosca. Foi feita uma tabela contendo informações a respeito dos volumes de água recuperados a cada umedecimento e a presença ou ausência de captação de sedimento (Tabela 1).

**Tabela 1** – Experimento de percolação: registro diário dos volumes de água e eventuais sedimentos capturados pelos cálices de fundo cônico e funis posicionados sob os tubos de alumínio, durante o período de umedecimento das colunas de solo arqueológico.

DIAS	TUBO 1 (ARENOSO)		TUBO 2 (ARENO-ARGILOSO)		TUBO 3 (ARGILOSO)	
	CAPTAÇÃO DE ÁGUA (ml)	CAPTAÇÃO (SEDIMENTO)	CAPTAÇÃO DE ÁGUA (ml)	CAPTAÇÃO (SEDIMENTO)	CAPTAÇÃO DE ÁGUA (ml)	CAPTAÇÃO (SEDIMENTO)
<b>1</b>	100	+	80	+	80	+
<b>2</b>	310	+	280	+	244	+
<b>3</b>	294	+*	142	+	-	-
<b>4</b>	310	+	435	+	295	+
<b>5</b>	307	+	314	+	268	+
<b>6</b>	290	+	305	+	225	+
<b>7</b>	290	+	275	-	-	-
<b>8</b>	285	+*	280	-	295	-
<b>9</b>	255	+	290	+	255	-
<b>10</b>	230	+	240	+	290	+
<b>TOTAL</b>	2671		2641		1952	

\*pouco sedimento

Após o período de 45 dias, utilizado para testar a percolação vertical dos ovos de *A. lumbricoides*, os tubos foram retirados do local no qual estavam fixados e foram transportados para o Departamento de Geologia e Paleontologia do Museu Nacional/UFRJ onde foram cortados com o auxílio de uma serra circular manual. Posteriormente, os tubos de alumínio foram novamente transportados para o laboratório de paleoparasitologia/ENSP/DENSP/FIOCRUZ onde foram abertos, permitindo acesso ao sedimento para coleta (Figura 25 A-D).



**Figura 25 (A-D)** – Fotografias dos tubos de alumínio abertos para início da coleta do sedimento. Aspecto do sedimento localizado no topo (A) e no centro (B) do tubo que possuía característica areno-argilosa; Fotografias do sedimento localizado no topo (C) do tubo que possuía característica arenosa e do sedimento localizado no topo do tubo que possuía característica argilosa (D). Foto: Morgana Camacho.

A coleta do sedimento contido no interior dos tubos foi feita de acordo com os esquemas dos perfis arqueostratigráficos elaborados em papel milimetrado pelo geólogo Renato Ramos (Figuras 17, 18 e 19). Conforme as camadas foram sendo coletadas, recebiam um número de identificação. Nos tubos 1 e 2 as primeiras camadas (topo do tubo) eram pouco espessas e observou-se que após a abertura dos tubos, se misturaram (Figuras 25 A e C). Por este motivo, estas camadas foram coletadas de forma a permanecerem juntas. No tubo 3, a camada 4 possuía 18 cm e por isso foi

dividida em duas partes e coletada em dois sacos com fecho hermético diferentes que por sua vez foram denominados camada 4 (B) e camada 4 (A), seguindo a estrutura organizacional da camada. O sedimento coletado foi identificado de acordo com as camadas dos quais foram retirados.

Em todos os tubos, as camadas constituintes da coluna sedimentar foram coletadas com o auxílio de luvas, espátulas de madeira descartáveis e sacos plásticos com fecho hermético. A cada camada coletada, o material de coleta era substituído por um novo, a fim de minimizar a contaminação por eventuais ovos de *A. lumbricoides* que pudessem estar presentes nas camadas anteriormente coletadas. Após esse processo, foram separados 20 g de sedimento de cada camada para análise por técnicas parasitológicas objetivando investigar a presença de ovos de *A. lumbricoides* e conseqüentemente a percolação destes ovos à medida que fossem encontrados nas camadas arqueológicas. O sedimento separado para análise foi encaminhado para o laboratório de Parasitologia da UFF/MIP.

#### **4.1.4 – Análise do sedimento contido nos tubos de alumínio e dos sedimentos controle:**

A eficiência das técnicas de sedimentação espontânea<sup>61</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup> foi testada na investigação dos ovos de *A. lumbricoides* tanto nos sedimentos provenientes dos tubos quanto nos sedimentos controle. A análise dos sedimentos provenientes dos tubos de alumínio (experimento de percolação) foi feita no laboratório de parasitologia da UFF/MIP e os sedimentos controle foram analisados no laboratório de paleoparasitologia DENSP/ENSP/FIOCRUZ. Todas as análises foram feitas em microscopia ótica. A leitura das lâminas foi feita em aumento de 100 X e fotografias em aumento final de 400 X.

Para ambos os tipos de sedimento, as análises foram iniciadas com a técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup>. Foram utilizados cálices de fundo cônico (350 ml) e funis. Os sedimentos (20 g), provenientes das camadas dos tubos de alumínio foram depositados em gazes triplamente dobradas sobre os funis. Água destilada foi acrescentada de forma que a sedimentação espontânea do material ocorreu num período de 24 horas. A partir do sedimento resultante do processo de sedimentação espontânea foram separados 1 ml para cada técnica de centrífugo-flutuação, sendo imediatamente

armazenados em ambiente refrigerado, em tubos plásticos graduados (15 ml) com tampa de rosca. O restante do sedimento foi reservado, também em ambiente refrigerado, para a finalização da análise pela técnica de sedimentação espontânea. Para tanto foram separados 200 µl de cada amostra.

Nas amostras controle, os sedimentos foram reidratados com fosfato trissódico a 0,5%<sup>4</sup>, por um período de 72 horas. Cálices cônicos (350 ml) com funis foram preparados para a sedimentação espontânea do material, sendo colocadas gazes triplamente dobradas sobre os funis. O processo da sedimentação espontânea se deu num período de 24 horas. Posteriormente, os sedimentos foram transferidos para tubos plásticos graduados com tampas de rosca e identificados de acordo com as camadas dos quais eram provenientes. Dois mililitros do sedimento obtido de cada amostra com a técnica de sedimentação espontânea foram separados para as técnicas de centrífugo-flutuação com açúcar<sup>64</sup> e centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33%<sup>65</sup>. Para a análise do material pela técnica de sedimentação espontânea foram separados 200µl de sedimento, totalizando 40 lâminas para cada amostra.

Após o término do processamento das amostras pela técnica de sedimentação espontânea, iniciaram-se as análises dos tubos separados para as técnicas de centrífugo-flutuação com açúcar<sup>64</sup> e com sulfato de zinco a 33%<sup>65</sup>. A técnica de centrífugo-flutuação com açúcar consistiu em centrifugar as amostras eluídas em água durante 10 minutos a 1500 rotações por minuto (rpm). Após este processo, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento desprendido do fundo dos tubos com auxílio de um vórtex. Solução de açúcar (d=1300) foi acrescentada até chegar ao nível de 14 ml, em seguida, os tubos foram submetidos a um novo período de centrifugação de 5 minutos a 1500rpm. Posteriormente, os tubos foram retirados cuidadosamente da centrífuga, colocados em estante de apoio e foi acrescentada a mesma solução de açúcar, cuidadosamente pela lateral dos tubos até formar menisco positivo. Lamínulas de 22 mm x 22 mm foram colocadas sobre o menisco por um período de 3 minutos. Após este período de tempo, as lamínulas foram retiradas e colocadas sobre lâminas previamente identificadas de acordo com as amostras. A leitura do material foi feita de maneira imediata. As análises dos sedimentos controle relacionadas à técnica de centrífugo-flutuação com açúcar<sup>64</sup> procederam da mesma maneira descrita para os sedimentos retirados dos tubos de alumínio, como descrito acima.

A técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco<sup>65</sup> foi feita posteriormente a técnica anterior e consistiu na centrifugação das amostras eluídas em água por um minuto a 2500rpm. Posteriormente o sobrenadante foi desprezado e o sedimento desprezado do fundo dos tubos com auxílio de um vórtex. Água destilada foi acrescentada até o nível de 14 ml e novamente submetida à centrifugação pelo mesmo período de tempo anteriormente aplicado, de forma que o processo descrito acima foi repetido até obter-se o sobrenadante limpo (5 centrifugações). Após este processo, o sobrenadante foi desprezado, o sedimento foi desprezado do fundo dos tubos e solução de sulfato de zinco 33% (d=1180)<sup>65</sup> foi acrescentada até o nível de 5 ml. Em seguida os tubos foram submetidos à nova centrifugação pelo mesmo período de tempo e rpm. Os tubos foram retirados cuidadosamente da centrífuga e depositados em estante de apoio. Com o auxílio de alças de platina foram coletadas de 4 a 5 gotas de cada um dos tubos de modo a não perfurar o menisco formado. Este material foi depositado em lâminas identificadas de acordo com a amostra e coberto com lamínulas de dimensões 22 mm x 22 mm, iniciando-se a leitura logo em seguida.

As análises dos sedimentos controle relacionadas com a técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180) foram processadas de acordo com a descrição da técnica que utiliza lamínulas ao invés de alças de platina<sup>65</sup>. Os procedimentos iniciais de limpeza do sobrenadante se repetiram igualmente nos dois casos diferenciando apenas a partir do momento que envolve o acréscimo da solução de sulfato de zinco a 33%. No caso dos sedimentos controle foi adicionada solução de sulfato de zinco a 33% até o nível de 14 ml. Após este procedimento, as amostras foram colocadas em centrífuga durante o período de 1 minuto à 2500rpm, em seguida foram retiradas e colocadas em estante de apoio. Solução de sulfato de zinco a 33% foi acrescentada cuidadosamente de maneira a formar menisco positivo. Lamínulas de 22 mm x 22 mm foram utilizadas na coleta do sobrenadante sempre evitando o contato das lamínulas com a borda superior dos tubos. Lâminas identificadas de acordo com as camadas das quais o sedimento pertencia foram preparadas e as lamínulas depositadas conforme as coletas iam sendo feitas. A leitura das lâminas foi feita imediatamente após este processo.

#### **4.2 – Coleta e análise paleoparasitológica de sedimentos provenientes do sepultamento 1 (*Locus 2*) do sambaqui Sernambetiba:**

No período de visitas ao sambaqui Sernambetiba no ano de 2011, a equipe de arqueólogos do Museu Nacional/UFRJ localizou um sepultamento no *Locus 2* (Figura 26). Este sepultamento estava localizado na base do perfil oeste do *Locus* abaixo de um bolsão de cinzas e foi retirado do sítio em bloco para posterior estudo, de maneira que a estrutura do sepultamento não fosse alterada (Figura 27). Posteriormente foi transportado para o laboratório de Arqueologia Casa de Pedra MN/UFRJ.

A coleta dos sedimentos para as análises paleoparasitológicas foi feita neste laboratório e com a supervisão da professora doutora Sheila Mendonça. Inicialmente os locais de coleta dos sedimentos controle foram determinados, sendo localizados próximos ao crânio, fêmur direito e costelas. Materiais descartáveis como luvas e palitos de madeira foram utilizados na coleta. Pincéis novos também foram utilizados sempre sendo descartados a cada coleta. Sacos de fecho hermético foram utilizados para armazenar os sedimentos que totalizaram três amostras. Para a coleta de sedimentos localizados no osso sacro do sepultamento foi necessária a coleta em bloco dos ossos e sedimentos aderidos. Sedimentos localizados abaixo do osso sacro foram coletados posteriormente à retirada dos ossos. Após estes procedimentos o bloco, contendo os ossos e sedimentos aderidos, foi transportado para o laboratório de paleoparasitologia onde as coletas relacionadas a este material foram feitas (Figura 28). O mesmo tipo de material descartável, utilizado anteriormente nas coletas dos sedimentos controle foi usado nas coletas dos sedimentos aderidos ao osso sacro. Os ossos estavam muito frágeis e aparentemente durante o processo de permanência do corpo do indivíduo no ambiente, o osso sacro e a última vértebra lombar se aderiram, de forma que a separação destas partes no momento da coleta dos sedimentos foi dificultada. Por este motivo, com o objetivo de separar os sedimentos aderidos nas partes de acesso mais difícil, álcool a 70% foi utilizado na lavagem dos ossos. Um total de seis amostras foi obtido no processo de coleta relacionado aos ossos do sacro. Cada coleta foi armazenada em tubos de plástico com tampa de rosca. Ao mesmo tempo, os sedimentos controle foram transferidos para os mesmos tipos de tubo.

O início do processo de análise de todas as amostras obtidas a partir do sepultamento se deu pela reidratação do material com fosfato trissódico a 0,5%<sup>4</sup>,

durante 72 horas. Somente oito amostras puderam ser submetidas à técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup>, visto que uma das amostras continha pouca quantidade de sedimento. Neste caso somente foi possível a análise direta do material. A técnica de sedimentação espontânea foi aplicada por um período de 24 horas. Os sedimentos obtidos a partir da técnica foram pipetados e transferidos para os tubos onde originalmente estavam armazenados antes de serem processados. Para a análise por microscopia ótica foram separados 100 µl de sedimento de cada amostra. As análises foram feitas em aumento de 100X e fotografias em aumento final de 400X e 1000X.



**Figura 26** – Fotografia do sepultamento encontrado no *Locus 2* do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ. A seta indica o a localização do sepultamento na fotografia. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional /UFRJ.



**Figura 27** – Fotografia do sepultamento 1, localizado no *Locus* 2 do sambaqui Sernambetiba. Fonte: Gina Bianchini, Museu Nacional /UFRJ.



**Figura 28** – Osso sacro aderido a última vértebra lombar do sepultamento 1. Foto: Morgana Camacho.

### **4.3 – Coleta e análise paleoparasitológica de sedimentos provenientes do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ:**

O sambaqui Guapi foi visitado pela equipe do Museu Nacional/UFRJ no ano de 2010 e durante esta visita foram coletadas amostras de cinco camadas arqueológicas e da camada superficial (bioturbada) provenientes do perfil recém-aberto para estudo inicial do sítio. As coletas foram feitas com materiais descartáveis, tais como luvas, palitos de madeira e colheres de plástico e as amostras obtidas foram armazenadas em tubos plásticos com tampa de rosca. Estas amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Paleoparasitologia DENSP/ENSP/FIOCRUZ para a realização de análise paleoparasitológica.

Primeiramente as amostras foram reidratadas com fosfato trissódico a 0,5% durante 72 horas<sup>4</sup> e em seguida foram submetidas à técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup> durante 24 horas. Os sedimentos obtidos a partir da técnica de sedimentação espontânea foram coletados com o auxílio de uma pipeta de vidro graduada e uma pera. A cada coleta as pipetas eram substituídas a fim de evitar contaminação de uma amostra para outra. O sedimento pipetado foi depositado nos mesmos tubos em que estavam armazenados antes do processamento pela técnica de sedimentação espontânea. Duzentos microlitros ( $\mu\text{l}$ ) de sedimento de cada amostra foram separados para análise por microscopia ótica, resultando em um total de 40 lâminas por amostra. A leitura em microscópio ótico foi feita sob o aumento de 100X e fotografias em aumento final de 400X.

## **5 – RESULTADOS:**

### **5.1 – Experimento de percolação e análise de sedimentos controle:**

No anexo 1 (A e B) encontram-se quadros comparativos com os resultados finais obtidos na análise dos sedimentos das camadas contidas nos tubos de alumínio 1 (arenoso), 2 (areno-argiloso) e 3 (argiloso) com relação ao processos de análise adotados (A) e controles com relação às técnicas parasitológicas utilizadas (B).

### 5.1.1 – Sedimento captado pelos cálices de fundo cônico e funis localizados sob os tubos de alumínio:

Estes sedimentos foram analisados de forma direta, ou seja, não foram processados por nenhum tipo de técnica parasitológica. Os resultados das análises destes sedimentos foram negativos para ovos de *A. lumbricoides*. Foram encontradas diversas larvas, diagnosticadas como de vida livre por sua morfologia característica na extremidade bucal, em todos os sedimentos coletados dos três tubos, durante o experimento de percolação (Figura 29). As larvas foram identificadas como sendo de vida livre pelo professor doutor Otílio Bastos MIP/UFF. Em alguns dos sedimentos foram encontrados protozoários ciliados semelhantes aos do gênero *Paramecium* e outro tipo de protozoário não identificado. Na tabela 2 estão os resultados detalhados para cada sedimento coletado e informações a respeito do dia de umedecimento e captura dos sedimentos.



**Figura 29** – Possíveis larvas de vida livre encontradas nos sedimentos captados pelos cálices de fundo cônico durante o experimento de percolação. Foto: Morgana Camacho.

**Tabela 2** – Experimento de percolação: número de larvas e protozoários recuperados durante a análise dos sedimentos captados pelos cálices de fundo cônico e funis posicionados sob os tubos de alumínio no período referente ao umedecimento das colunas de solo arqueológico.

DIAS	TUBO 1 (ARENOSO)		TUBO 2 (ARENO-ARGILOSO)		TUBO 3 (ARGILOSO)	
	LARVAS (n)	PROTOZOÁRIOS (n)	LARVAS (n)	PROTOZOÁRIOS (n)	LARVAS (n)	PROTOZOÁRIOS (n)
1	-	-	2	-	4	-
2	78	-	15	±20 <sup>a</sup>	28	-
3	27	-	8	-	_*	_*
4	34	-	10	-	-	-
5	53	±15 <sup>b</sup>	3	-	-	-
6	78	-	10	-	56	-
7	57	-	_*	_*	_*	_*
8	16	-	_*	_*	_*	_*
9	22	-	14	-	_*	_*
10	18	-	7	-	23	-

<sup>a</sup> semelhantes aos do gênero *Paramecium*; <sup>b</sup> não identificados

\_\* não houve capturação de sedimento

## **5.1.2 – Sedimentos provenientes das camadas que constituíam os tubos de alumínio:**

### **5.1.2.1 – Tubo 1 (sedimento arenoso):**

Os resultados relacionados aos vinte gramas de sedimentos separados de cada camada para as análises pelas técnicas de sedimentação espontânea<sup>61</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar<sup>64</sup> e centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33%<sup>65</sup> encontram-se na tabela 3.

Foram recuperados ovos de *A. lumbricoides* apenas nas camadas superiores deste tubo. Nas camadas 12, 11 e 10 (topo do tubo), que foram coletadas juntas, foi encontrado o maior número de ovos. Na camada 9, localizada logo abaixo, somente foi encontrado um ovo. A técnica de sedimentação espontânea recuperou grande quantidade de ovos de *A. lumbricoides* nas camadas 12, 11 e 10. A técnica de centrífugo-flutuação com açúcar recuperou alguns ovos nas camadas 12, 11 e 10 e um único ovo na camada 9. A técnica de centrífugo-flutuação com sulfato e zinco a 33% recuperou poucos ovos. As camadas subsequentes foram negativas nas análises de todas as técnicas (Tabela 3).

**Tabela 3** – Número de ovos de *Ascaris lumbricoides* recuperados pelas técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e sedimentação espontânea<sup>61</sup> na análise dos sedimentos (20 g) de cada camada contida no tubo 1 (arenoso).

<b>TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS</b>			
<b>IDENTIFICAÇÃO (Nº DAS CAMADAS)</b>	<b>CENTRÍFUGO- FLUTUAÇÃO COM SULFATO DE ZINCO A 33% (1 ml)</b>	<b>CENTRÍFUGO- FLUTUAÇÃO COM AÇÚCAR (1 ml)</b>	<b>SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA (200 µl)</b>
<b>OVOS RECUPERADOS (n)</b>			
<b>12, 11 e 10</b>	4	18	34
<b>9</b>	-	1	-
<b>8</b>	-	-	-
<b>7</b>	-	-	-
<b>6</b>	-	-	-
<b>5</b>	-	-	-
<b>4</b>	-	-	-
<b>3</b>	-	-	-
<b>2</b>	-	-	-
<b>1</b>	-	-	-

#### **5.1.2.2 – Tubo 2 (sedimento areno-argiloso):**

Os resultados obtidos com as análises dos sedimentos provenientes deste tubo mostram que os ovos de *A. lumbricoides* ficaram concentrados nas duas primeiras camadas do topo do tubo. Conforme ocorreu no tubo 1, essas camadas também foram coletadas juntas, visto que se misturaram no momento da abertura do tubo e foram identificadas como camadas 15 e 14. As camadas subsequentes se mostraram negativas para ovos de *A. lumbricoides*.

Com relação às técnicas testadas, a técnica de centrífugo-flutuação com açúcar recuperou maior número de ovos do que as técnicas de sedimentação espontânea e centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33%, respectivamente (Tabela 4).

**Tabela 4** - Número de ovos de *Ascaris lumbricoides* recuperados pelas técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% ( $d=1180$ )<sup>65</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar ( $d=1300$ )<sup>64</sup> e sedimentação espontânea<sup>61</sup> na análise dos sedimentos (20 g) de cada camada contida no tubo 2 (areno-argiloso).

IDENTIFICAÇÃO (Nº DAS CAMADAS)	TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS		
	CENTRÍFUGO- FLUTUAÇÃO COM SULFATO DE ZINCO A 33% (1 ml)	CENTRÍFUGO- FLUTUAÇÃO COM AÇÚCAR (1 ml)	SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA (200 µl)
OVOS RECUPERADOS (n)			
14 e 15	5	55	16
12 e 13	-	-	-
11	-	-	-
10	-	-	-
9	-	-	-
8	-	-	-
7	-	-	-
6	-	-	-
5	-	-	-
4	-	-	-
3	-	-	-
2	-	-	-
1	-	-	-

#### 5.1.2.3 – Tubo 3 (sedimento argiloso):

Os resultados obtidos neste tubo foram semelhantes aos encontrados nos tubos anteriores. Os ovos de *A. lumbricoides* ficaram retidos nas duas primeiras camadas que foram denominadas camadas 5 e 4.

A técnica de centrífugo-flutuação com açúcar recuperou maior número de ovos na camada do topo do tubo (camada 5) do que a técnica de sedimentação espontânea. Por outro lado, na camada 4 (B) a técnica de sedimentação espontânea recuperou um ovo de *A. lumbricoides*, enquanto que na técnica de centrífugo-flutuação com açúcar o resultado foi negativo. Ainda com relação à técnica de sedimentação espontânea, na

camada 4 (B) foi encontrado um ovo de ascarídeo cujas dimensões eram superiores às encontradas nos ovos de *A. lumbricoides* experimentalmente introduzidos (Figura 30). Em ambas as camadas, a técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% não recuperou nenhum ovo. Os sedimentos das demais camadas se mostraram negativos para ovos de *A. lumbricoides* (Tabela 5).



**Figura 30** – Ovo de ascarídeo encontrado na camada 4 (B), na análise dos sedimentos pela técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup>. Foto: Morgana Camacho.

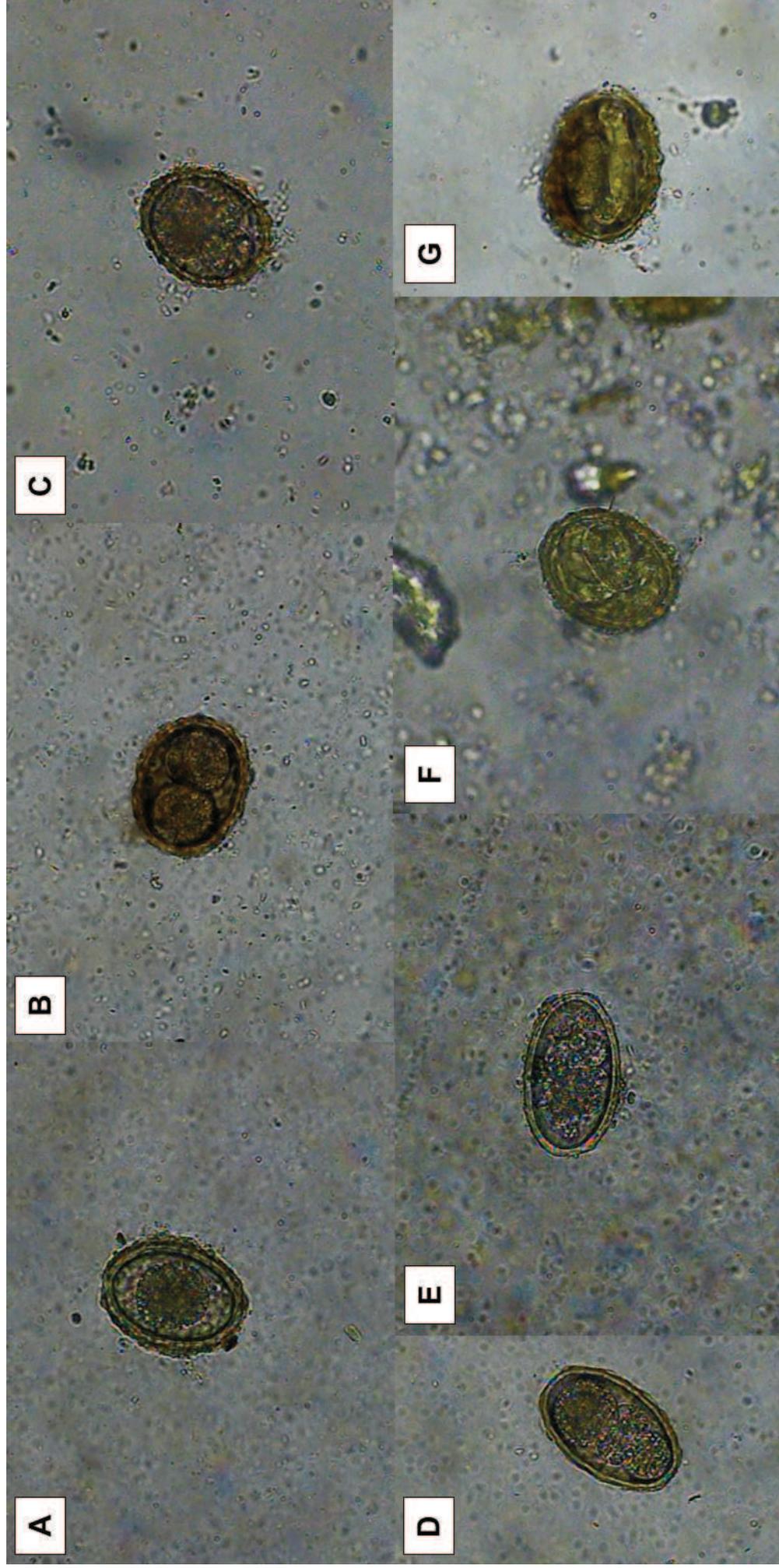
**Tabela 5** - Número de ovos de *Ascaris lumbricoides* recuperados pelas técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e sedimentação espontânea<sup>61</sup> na análise dos sedimentos (20g) de cada camada contida no tubo 3 (argiloso).

<b>TÉCNICAS PARASITOLÓGICAS</b>			
<b>IDENTIFICAÇÃO (Nº DAS CAMADAS)</b>	<b>CENTRÍFUGO- FLUTUAÇÃO COM SULFATO DE ZINCO A 33% (d=1180) (1 ml)</b>	<b>CENTRÍFUGO- FLUTUAÇÃO COM AÇÚCAR (d=1300) (1 ml)</b>	<b>SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA (200 µl)</b>
<b>OVOS RECUPERADOS (n)</b>			
<b>5</b>	-	73	31
<b>4 (B)</b>	-	-	2*
<b>4 (A)</b>	-	-	-
<b>3</b>	-	-	-
<b>2</b>	-	-	-
<b>1</b>	-	-	-

\*foi encontrado um ovo de ascarídeo cujas medidas não eram semelhantes às dos ovos de *Ascaris lumbricoides* introduzidos.

#### **5.1.2.4 – Ovos de *A. lumbricoides* encontrados:**

Os ovos de *A. lumbricoides* que foram encontrados eram do tipo viáveis, em sua maioria larvados, apresentavam coloração marrom-amarelada e casca mamilonada. Baseando-se no trabalho de Cruz e colaboradores<sup>81</sup>, foram identificadas algumas fases evolutivas dos ovos, tais como, a presença de 1-célula, 2-células, 3-células e 4-células. Alguns ovos estavam em fases evolutivas que pareciam semelhantes à mórula-jovem e a larvas dos tipos 1 e 2 (Figura 31 A-G).



**Figura 31 (A-G)** – Fotografias de alguns dos ovos de *Ascaris lumbricoides* recuperados, mostrando as diferentes fases evolutivas encontradas. (A) 1-célula; (B) 2-células; (C) 3-células; (D) 4-células; (E) semelhante à mórula-jovem; (F) semelhante à larva 1 e (G) semelhante à larva 2, de acordo com Cruz e colaboradores<sup>81</sup>. Média das medidas dos ovos: 60,75  $\mu\text{m}$  x 49,21  $\mu\text{m}$ . Fotos: Cláudia Uchoa e Morgana Camacho.

### **5.1.3 – Análise paleoparasitológica dos sedimentos controle:**

Os resultados referentes às análises paleoparasitológicas dos sedimentos controle dos tubos 1, 2 e 3, pelas técnicas de sedimentação espontânea<sup>61</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e centrífugo flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup> estão detalhados nas tabelas 6, 7 e 8.

#### **5.1.3.1 – Sedimentos controle do Tubo 1 (arenoso):**

A análise paleoparasitológica feita com a técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup> resultou positiva para um ovo de ascarídeo. Apesar de as dimensões serem comparáveis às de um ovo de *A. lumbricoides* infértil (89 µm x 64 µm), a morfologia deste ovo não se assemelhava (Figura 32). O ovo possuía coloração marrom e casca externa espessa e com uma parte deteriorada. Este ovo foi encontrado no sedimento controle referente ao que seria o meio do tubo de alumínio (Figura 33) (Tabela 6). As demais análises por esta técnica resultaram negativas para ovos de helmintos e quaisquer vestígios de parasitos.

O resultado das análises feitas com as técnicas de centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup> foram negativos para ovos de helmintos e quaisquer vestígios de outros parasitos.



**Figura 32** – Ovo de ascarídeo (89 µm x 64 µm) encontrado em um dos sedimentos controle referentes ao tubo 1 (arenoso). Foto: Morgana Camacho.



**Figura 33** – Fotografia do perfil norte (antiga coluna zooantracológica) mostrando o local das coletas do tubo 1 (arenoso) e dos sedimentos controle referentes a este tubo. A seta indica o local de coleta do sedimento controle cuja análise pela técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup> resultou positiva para um ovo de ascarídeo. Foto: Morgana Camacho.

**Tabela 6** – Resultado das análises paleoparasitológicas dos sedimentos controle correspondentes ao tubo 1 (arenoso), realizadas com as técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e sedimentação espontânea<sup>61</sup>.

<b>ESPECIFICAÇÕES (LOCALIZAÇÃO NO PERFIL E CARACTERÍSTICAS DAS CAMADAS)</b>	<b>CENTRÍFUGO-FLUTUAÇÃO COM SULFATO DE ZINCO A 33% (d=1180) (1 ml)</b>	<b>CENTRÍFUGO-FLUTUAÇÃO COM AÇÚCAR (d=1300) (1 ml)</b>	<b>SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA (200 µl)</b>
<b>Camada Bioturbada (coletado a 7cm de profundidade)*</b>	-	-	-
<b>4ª camada acima da base (coletado a 8cm de profundidade)*</b>	-	-	-
<b>3ª camada acima da base (coletado a 8cm de profundidade)*</b>	-	-	+*
<b>2ª camada acima da base (coletado a 11cm de profundidade)</b>	-	-	-
<b>1ª camada acima da base (coletado a 8cm de profundidade)</b>	-	-	-
<b>Camada Base (coletado a 6cm de profundidade)</b>	-	-	-

+\*ovo de ascarídeo

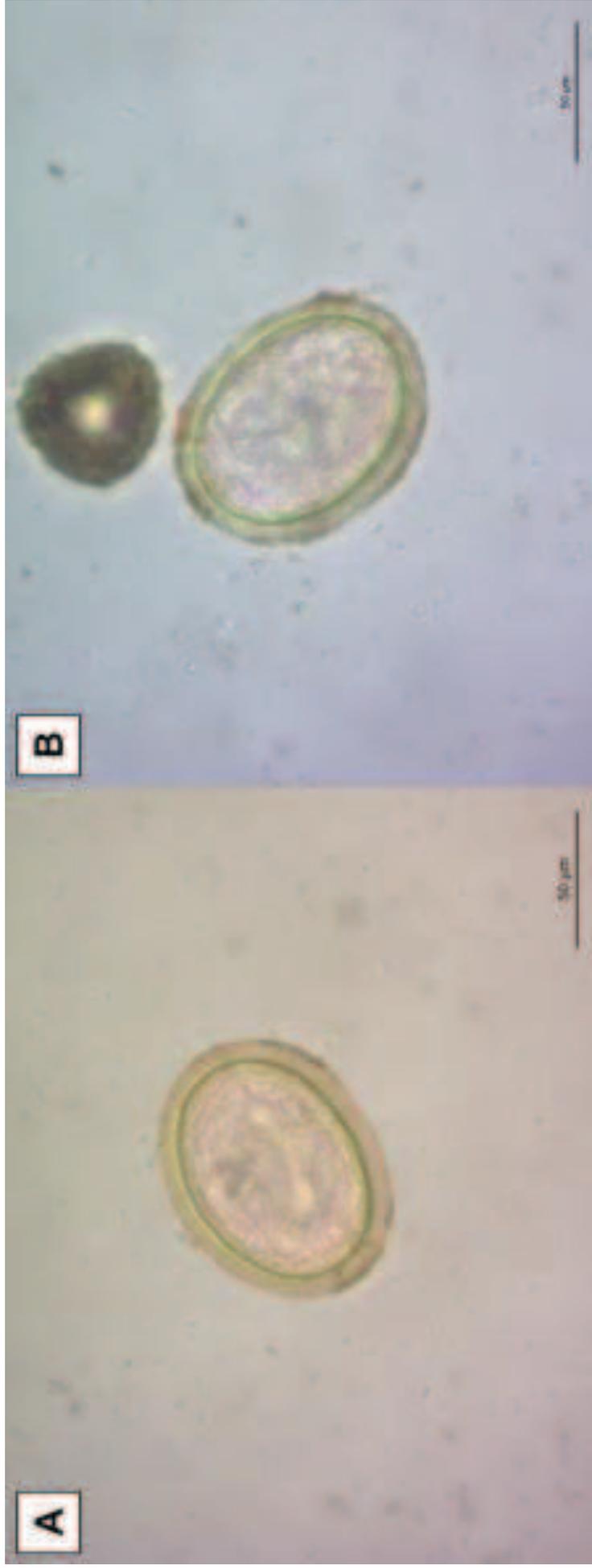
\*camadas cuja localização é equivalente às camadas presentes no tubo 1.

### **5.1.3.2 - Sedimentos controle do Tubo 2 (areno-argiloso):**

Os resultados das análises paleoparasitológicas dos sedimentos controle do tubo 2 foram negativos para ovos de *A. lumbricoides* e de outros helmintos, nas três técnicas utilizadas.

### **5.1.3.3 – Sedimentos controle do Tubo 3 (argiloso):**

Os resultados das análises dos sedimentos controle do tubo 3 foram negativos para ovos de *A. lumbricoides* e de outros helmintos nas técnicas de sedimentação espontânea<sup>61</sup> e de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup>. Por outro lado, nas análises pela técnica de centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> foram encontrados dois ovos de ascarídeos (Figura 34 A e B). Os ovos possuíam coloração marrom clara, casca externa espessa e conteúdo embrionário. Suas dimensões eram maiores (98 µm x 75 µm) do que as dimensões encontradas em ovos de *A. lumbricoides* férteis ou inférteis. Estes ovos foram encontrados na camada do topo (bioturbada) do perfil sul (área de investigação da base) e na camada localizada logo abaixo. Os resultados de todas as análises dos sedimentos controle do tubo 3 estão expostos na tabela 7.



**Figura 34 A e B** – Ovos de ascarídeo (98 µm x 75 µm) encontrados nas primeiras camadas (bioturbada e 2<sup>a</sup> camada acima da base – tabela 7) nas análises dos sedimentos controle do tubo 3 (argiloso), pela técnica de centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup>. Foto: Morgana Camacho.

**Tabela 7** - Resultado das análises paleoparasitológicas dos sedimentos controle correspondentes ao tubo 3 (argiloso), realizadas com as técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup>, centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e sedimentação espontânea<sup>61</sup>.

<b>ESPECIFICAÇÕES (LOCALIZAÇÃO NO PERFIL E CARACTERÍSTICAS DAS CAMADAS)</b>	<b>CENTRÍFUGO-FLUTUAÇÃO COM SULFATO DE ZINCO A 33% (d=1180) (1 ml)</b>	<b>CENTRÍFUGO-FLUTUAÇÃO COM AÇÚCAR (d=1300) (1 ml)</b>	<b>SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA (200 µl)</b>
<b>Camada Bioturbada (coletado a 4cm de profundidade)</b>	-	+*	-
<b>2ª camada acima da base (coletado a 5cm de profundidade)</b>	-	+*	-
<b>1ª camada acima da base (coletado a 5cm de profundidade)</b>	-	-	-
<b>Camada Base</b>	-	-	-

+\*ovos de ascarídeo

## **5.2 – Sepultamento 1 (*Locus* 2) do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ:**

Foram analisadas pela técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup> nove amostras, sendo três amostras controles e o restante retiradas aderidas ou próximas ao osso sacro do sepultamento. Uma amostra controle, coletada ao lado do fêmur direito resultou positiva para um ovo de ácaro. O ovo possuía dimensões de 213 µm x 62 µm, casca fina e não apresentava conteúdo embrionário. As amostras de sedimento retirado sob o osso sacro e aderido à parte superior do sacro e da vértebra lombar foram positivas para uma larva e um ácaro respectivamente. As especificações referentes ao local de coleta dos sedimentos e os resultados das análises estão detalhados na tabela 8.

**Tabela 8** – Especificações relacionadas à coleta dos sedimentos controle e do sacro do sepultamento 1 (*Locus* 2) do sambaqui Sernambetiba, município de Guapimirim, RJ e resultados das análises paleoparasitológicas.

<b>ESPECIFICAÇÕES (LOCALIZAÇÃO DAS COLETAS)</b>	<b>SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA (100 µl)</b>
Sedimento Controle (posição ao lado do Fêmur direito)	+*
Sedimento Controle (retirado próximo ao Crânio)	-
Sedimento Controle (retirado próximo às costelas)	-
Sedimento retirado do osso Sacro (externo aos ossos)	-
Sedimento retirado do osso Sacro (aderido aos ossos)	-
Sedimento retirado do osso Sacro (Varredura da parte superior do Sacro, ligado à vértebra)	-
Sedimento sob o Sacro	+**
Sedimento aderido aos ossos pequenos do sacro e vértebras quebradas (retirado com o auxílio de álcool 70%)	-
Sedimento retirado dos pequenos ossos ligados ao Sacro superior e vértebras posição lombar (retirado com o auxílio de álcool 70%)	+***

+\* Ovo de ácaro; +\*\* larva; +\*\*\* ácaro

### **5.3 – Análise paleoparasitológica de sedimentos provenientes das camadas bioturbada (superfície) e arqueológicas do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ:**

Foram analisados sedimentos coletados de cinco camadas arqueológicas e da camada bioturbada (superior), pela técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup>. A camada bioturbada e três camadas arqueológicas resultaram negativamente para vestígios de parasitos enquanto que nas outras duas camadas foram encontrados dois ovos de Acanthocephala, um ovo da superfamília Heterakoidea e um ovo da superfamília Ascaridoidea identificados pela doutora Rosângela Rodrigues e Silva do Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados-IOC/FIOCRUZ.

Os ovos de Acanthocephala possuíam coloração marrom-amarelada, apresentavam a casca externa degradada e sem contorno definido. A casca interna estava preservada e delimitava o conteúdo embrionário amorfo. As dimensões dos ovos eram de 113 µm x 53 µm (Figura 35 A) e 170 µm x 90 µm (Figura 35 B).

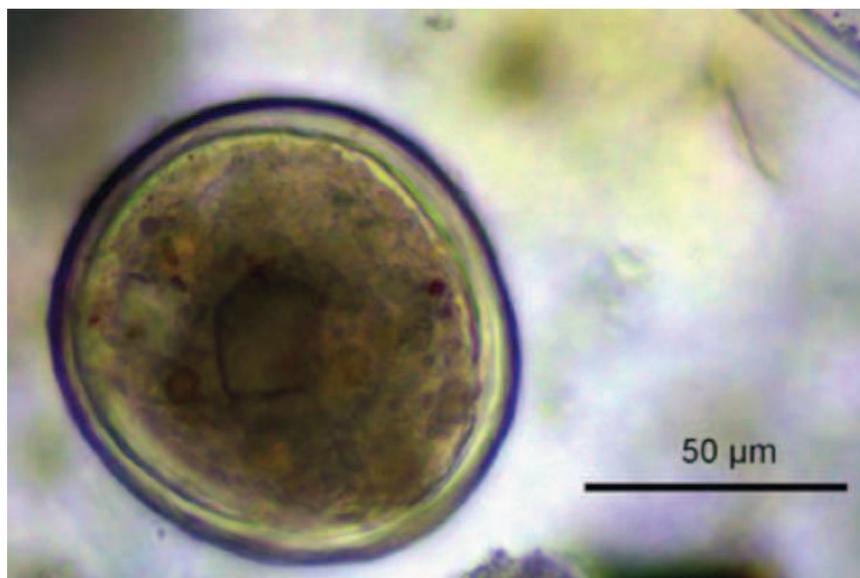
O ovo de Heterakoidea apresentava formato redondo e casca dupla, sendo a externa mais espessa quando comparada com a interna. A dimensão do ovo era de 92 µm x 85 µm (Figura 36).

O ovo de Ascaridoidea possuía dimensões de 79 µm x 66 µm, apresentava coloração amarelada e casca mamilonada (Figura 37).

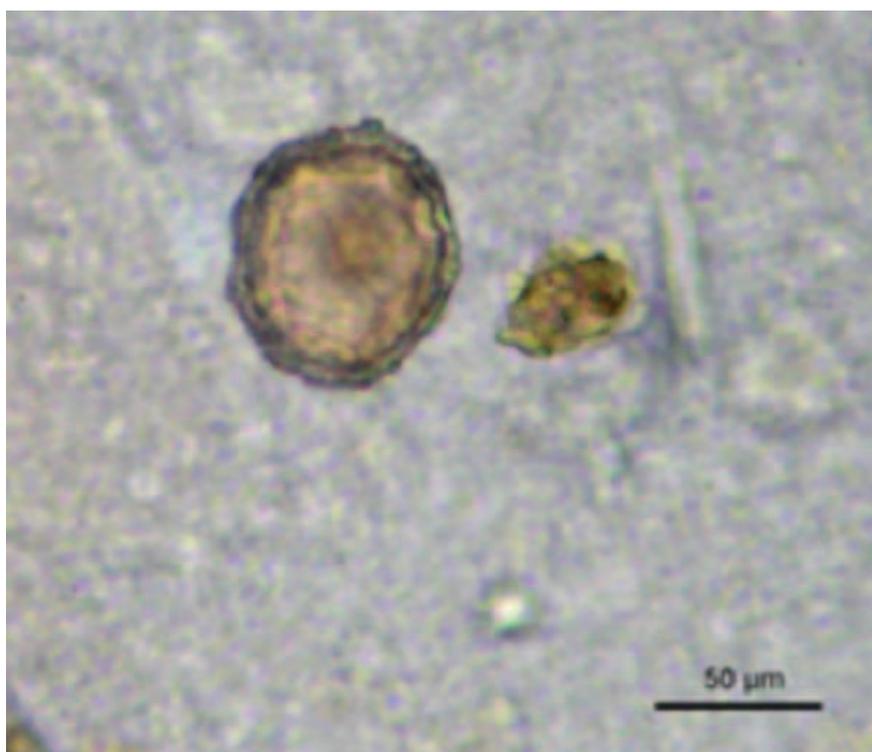
Informações gerais a respeito destes achados encontram-se em artigo gerado a partir da técnica utilizada e dos achados encontrados nestas análises (Anexo 2).



**Figura 35 (A e B)** – Ovos de *Acanthocephala* encontrados em amostras de sedimentos provenientes de camadas arqueológicas do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ. Foto: Morgana Camacho e Thaíla Pessanha.



**Figura 36** – Ovo de Heterakoidea encontrado em amostra de sedimento provenientes de camadas arqueológicas do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ. Foto: Morgana Camacho.



**Figura 37** – Ovo de Ascaridoidea encontrado em amostra de sedimento provenientes de camadas arqueológicas do sambaqui Guapi, município de Guapimirim, RJ. Foto: Thaíla Pessanha.

## 6 – DISCUSSÃO:

Na análise de sedimentos a dispersão dos vestígios parasitológicos é um problema que dificulta o achado de formas parasitárias, porém, os achados parasitários descritos indicam que a recuperação destas formas é possível, sendo importantes para o aumento da contribuição aos estudos paleoparasitológicos. Contudo, a maioria dos achados se concentra no encontro de vestígios de parasitos em material coletado de latrinas e esqueletos e alguns poucos que utilizaram sedimentos provenientes de camadas arqueológicas. Isto indica a necessidade de aprofundar os estudos em paleoparasitologia em materiais deste tipo.

Os sambaquis são os testemunhos culturais mais presentes no Brasil, pois sua constituição e construção foram capazes de preservá-los melhor do que quaisquer outros vestígios da existência da população sambaqueira e de outras populações que habitaram o litoral do país<sup>45</sup>. Apesar da importância arqueológica e antropológica deste tipo de sítio, o achado de vestígios de parasitos é raro<sup>60,62</sup>. A construção dos sambaquis e os materiais utilizados para a confecção de suas camadas arqueológicas são muito semelhantes, porém, é importante ressaltar que cada sítio possui uma estrutura organizacional única.

Este trabalho não teve como objetivo realizar um estudo quantitativo no que diz respeito à recuperação dos ovos, mas sim se a percolação era a responsável pela perda de ovos de parasitos em sambaquis. Existem trabalhos a respeito da percolação de patógenos como bactérias, vírus, protozoários e até mesmo de fragmentos de DNA antigo (aDNA)<sup>82,83,84,85,86,87,88,89</sup>, porém não foram encontrados trabalhos a respeito da percolação de ovos de parasitos. Além disso, estes estudos estão direcionados para a abordagem acerca do tratamento da água após entrar em contato com o solo, diferentemente do trabalho proposto, no qual objetivou-se testar a percolação da água entre as camadas de um tipo de sítio arqueológico específico, a fim de conhecer sua influência na perda de ovos de parasitos e consequente contaminação de camadas mais antigas de sedimento.

O recurso de pesagem das fezes frescas sobre papel vegetal foi necessário para que não houvesse perda da quantidade exata de fezes a serem experimentalmente introduzidas no sedimento de cada tubo, pois se as fezes fossem pesadas sobre algum tipo de recipiente, provavelmente o volume fecal desejado seria desperdiçado. Por esse

motivo, as fezes foram introduzidas juntamente com o papel vegetal de maneira que ficassem em contato com o sedimento

Devido às condições de pluviosidade constante e a própria localização dos sítios estudados foi hipotetizado pensou-se que a percolação poderia ser o principal motivo da ausência de registros de parasitos. Além disso, a percolação de ovos, principalmente das camadas superficiais por serem as mais recentes, para as camadas mais profundas (mais antigas) poderia representar a contaminação deste sedimento e com isso causar uma interpretação errônea a respeito da antiguidade dos achados. Com o experimento de percolação vertical relacionado à contaminação experimental de ovos de *A. lumbricoides* em colunas de solo arqueológico indeformado e com constituições diferentes entre si foi possível visualizar a interferência da constituição das camadas neste processo.

Os primeiros resultados, referentes à análise do sedimento captado pelos cálices cônicos, mostraram que apesar do intenso fluxo de água, os ovos aparentemente não estavam percolando até a base do tudo, visto que nenhum ovo experimentalmente introduzido foi recuperado.

Diversas larvas de vida-livre e alguns protozoários foram encontrados. Estes achados ratificaram a preocupação com relação à degradação dos ovos pela ação da microbiota presente naquele sedimento, pois o achado destes organismos possibilitou considerar a presença de outros microrganismos, tais como fungos decompositores de estruturas biológicas como as de origem parasitária. Em concordância a essa linha de pensamento, Teixeira-Santos<sup>60</sup> menciona a problemática que envolve a atividade biótica neste tipo de sítio e o conseqüente comprometimento da preservação de material orgânico. Realizando técnica de espalhamento de solo, Leles<sup>62</sup> levanta a questão sobre a presença destes fungos em sambaquis, porém não obtém resultados positivos. Apesar disso, menciona a presença de esporos de fungos deste tipo no sedimento. Camacho e colaboradores<sup>90</sup> (Anexo 2) relatam a presença de esporos semelhantes no sambaqui Guapi, por meio de estudo comparativo. Buchan e Flury<sup>87</sup> incluem a predação por microrganismos como um dos principais motivos para o desaparecimento de esporos, cistos, larvas e ovos de parasitos no solo. Apesar da conhecida resistência dos ovos de *A. lumbricoides* a condições adversas<sup>91</sup> considerou-se a hipótese de que os ovos

experimentalmente introduzidos tivessem sido predados e que nenhum fosse recuperado.

Posteriormente as análises relacionadas ao sedimento contido no interior dos tubos de alumínio foram feitas, fornecendo resultados positivos relacionados aos ovos de *A. lumbricoides* introduzidos. Ao contrário do que era esperado, aparentemente os ovos resistiram à atividade de microrganismos e ficaram concentrados nas camadas superiores de cada um dos tubos. Ocorreu uma percolação mínima nos tubos 1 (arenoso) e 3 (argiloso), visto que poucos ovos de *A. lumbricoides* foram recuperados nas camadas abaixo da superficial. No tubo 2 (areno-argiloso) somente foram encontrados ovos nas duas primeiras camadas cujo sedimento se misturou no momento da coleta. A percolação vertical testada neste experimento parece não representar o fator responsável pela perda dos ovos de *A. lumbricoides* neste tipo de sedimento, além de inviabilizar a possibilidade de contaminação das camadas inferiores por ovos recentes localizados nas camadas superiores. A partir deste raciocínio pode-se presumir que os poucos achados de vestígios de parasitos em sambaquis são de grande importância paleoparasitológica, à medida que podem representar o contexto arqueológico no qual estão inseridos.

No tubo 1 foram encontrados ovos nas camadas superiores caracterizadas pela presença de marisco fragmentado, ossos de peixe, areia fina, poucas valvas de moluscos do gênero *Anomalocardia* e pelotas de argila com diâmetro de 1-2 cm (camadas 12, 10 e 9); cinzas com fragmentos pequenos de marisco e areia (camada 11). No tubo 2 foram encontrados ovos nas camadas superiores caracterizadas pela presença de marisco fragmentado e ossos de peixe (camada 15); carvão (camada 14). No tubo 3 foram encontrados ovos nas camadas superiores caracterizadas pela presença de marisco fragmentado com matriz de argila escura e valvas de moluscos do gênero *Anomalocardia* (camada 5); areia escura, marisco fragmentado e carvão (camada 4A e B).

O tamanho dos materiais constituintes das camadas superiores do tubo 1, onde foram recuperados ovos de *A. lumbricoides* introduzidos, pode ter facilitado a passagem dos ovos. A argila poderia ser um tipo de material que reteria os ovos, pois de certa forma retém o fluxo da água. A argila contida nestas camadas estava concentrada em pontos isolados (pelotas) e por isso poderiam reter alguns ovos, porém não todos. No

tubo 2, não havia a presença de argila nas primeiras camadas, porém de carvão (camada 14) que pode ter contribuído para a retenção destes ovos. No tubo 3, a camada 5 possuía argila em sua constituição, porém os fragmentos maiores e mais espaçados de conchas permitiriam a passagem dos ovos. Na camada 4 (A) e (B), argila fazia parte da quase totalidade deste sedimento fazendo com que estes ovos ficassem retidos. Buchan e Flury<sup>87</sup> argumentam que os microrganismos podem ficar retidos entre os grãos se seus diâmetros forem maiores ou até mesmo ficarem presos na interface ar/água que se forma na superfície do solo.

Na análise do sedimento contido no tubo 3 (argiloso) foi encontrado um ovo de ascarídeo na camada 4 (B). Este achado não poderia interferir na interpretação dos achados dos ovos de *A. lumbricoides* introduzidos, pois possuía dimensões bem maiores quando comparadas com as dos ovos utilizados no estudo. O encontro deste ovo corrobora com o nível de percolação obtido com os ovos experimentalmente introduzidos, visto que não foram encontrados outros ovos deste tipo abaixo da camada em que estava localizado.

Com relação à análise dos sedimentos controle do tubo 1 (arenoso) foi recuperado um ovo de ascarídeo no que seria considerado sedimento correspondente ao meio do tubo. Este achado também não interfere na interpretação dos achados relacionados ao experimento de percolação, pois a morfologia e as dimensões deste ovo não se assemelham aos ovos de *A. lumbricoides* introduzidos. Na análise dos sedimentos controle do tubo 2 (areno-argiloso) não foram recuperados ovos de parasitos, porém nos sedimentos controle do tubo 3 (argiloso) foram recuperados dois ovos de ascarídeo cujas dimensões também diferem quando comparadas com os ovos de *A. lumbricoides* introduzidos. Estes achados foram feitos nos sedimentos controle equivalentes a localização das camadas 5 e 4B no tubo de alumínio, não sendo encontrados nas camadas localizadas abaixo. O nível destes achados nas camadas arqueológicas do perfil no qual foram retirados os sedimentos controle deste tubo reforça os resultados obtidos na percolação, visto que os ovos de *A. lumbricoides* recuperados foram encontrados em nível semelhante.

O achado dos ovos de ascarídeos não identificados, tanto no sedimento do tubo 3 (argiloso) quanto nos sedimentos controle dos tubos 1 (arenoso) e 3 é importante pois

apesar da raridade do encontro de ovos de parasitos em sambaquis, neste trabalho mostrou-se que de certa forma estes ovos se preservam no sítio.

Na análise dos sedimentos provenientes dos tubos de alumínio (experimento de percolação), com relação às técnicas utilizadas, a centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup> e a sedimentação espontânea<sup>61</sup> tiveram um desempenho semelhante. No caso dos sedimentos do tubo 1 (arenoso), a sedimentação espontânea se mostrou mais eficiente quando compara-se o número de ovos de *A. lumbricoides* recuperados (n=34) em relação às técnicas de centrífugo-flutuação com açúcar (n=18) e centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180) (n=4). Em compensação, a técnica de centrífugo-flutuação com açúcar recuperou um ovo na camada 9, onde as outras técnicas obtiveram resultado negativo.

Na análise dos sedimentos provenientes do tubo 2 (areno-argiloso) a técnica de centrífugo-flutuação com açúcar (n=55) mostrou-se mais eficiente que as técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (n=5) e sedimentação espontânea (n=16).

Na análise dos sedimentos provenientes do tubo 3 (argiloso) a técnica de centrífugo-flutuação com açúcar (n=73) recuperou maior quantidade de ovos quando comparada com as técnicas de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (n=0) e sedimentação espontânea (n=31), porém esta última técnica recuperou um ovo de *A. lumbricoides* e um ovo de ascarídeo na camada 4(B) localizada abaixo da camada 5 (superior), onde as outras técnicas obtiveram resultado negativo.

Na análise dos sedimentos controle, as técnicas de centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300)<sup>64</sup>, e sedimentação espontânea<sup>61</sup> também tiveram desempenho semelhante. Nestes sedimentos, a técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% (d=1180)<sup>65</sup> foi feita com o auxílio de lamínulas para a remoção do sobrenadante ao invés de alças de platina. Faust e colaboradores<sup>65</sup> comparam as duas metodologias e chegam à conclusão de que a eficiência é semelhante.

Nos sedimentos controle do tubo 1 (arenoso), um ovo de ascarídeo foi recuperado pela técnica de sedimentação espontânea, demonstrando maior eficiência na recuperação de ovos de parasito neste sedimento. As outras técnicas obtiveram

resultados negativos na análise destes sedimentos. Nos sedimentos controle do tubo 2 (areno-argiloso) nenhum ovo de parasito foi encontrado com as três técnicas.

No sedimento controle do tubo 3 (argiloso), a técnica de centrífugo-flutuação com açúcar<sup>64</sup> recuperou dois ovos de ascarídeos, sendo que as outras duas técnicas obtiveram resultados negativos.

As técnicas de centrífugo-flutuação com açúcar ( $d=1300$ )<sup>64</sup> e sedimentação espontânea<sup>61</sup> apresentaram melhores resultados quando comparadas à técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% ( $d=1180$ )<sup>65</sup>. Porém, apesar de terem apresentado desempenho semelhante na recuperação dos ovos, aparentemente a técnica de centrífugo-flutuação com açúcar foi mais eficiente na recuperação dos ovos de *A. lumbricoides* no sedimento argiloso, enquanto que a técnica de sedimentação espontânea foi mais eficiente na recuperação dos ovos em sedimento arenoso.

Embora não tenham sido encontrados ovos de *A. lumbricoides* nas camadas inferiores no experimento de percolação, é importante que se faça uma avaliação da migração do DNA destes ovos, visto que, há a possibilidade deste material ter migrado entre as camadas das colunas de solo. Para tanto, alíquotas destas camadas e dos sedimentos controle foram alíquotadas e armazenadas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para posterior estudo.

Apesar da quantidade de ovos de *A. lumbricoides* recuperados em cada tubo ser baixa, quando relacionada ao número de ovos experimentalmente introduzidos nos sedimentos, é importante lembrar que o sedimento contido nos tubos não foi esgotado, de maneira que não foi possível realizar uma comparação estatística do número de ovos introduzidos e o número de ovos recuperados. O esgotamento do sedimento seria possível, porém demandaria tempo hábil não disponível em um mestrado.

Com relação ao encontro de ovos de parasitos do filo Acanthocephala e superfamílias Heterakoidea e Ascaridoidea em sedimentos arqueológicos do sambaqui Guapi, é importante destacar a eficiência da técnica de sedimentação espontânea<sup>61</sup> na recuperação destes ovos, bem como, na recuperação dos ovos de *A. lumbricoides* experimentalmente introduzidos nas colunas de solo arqueológico contidas nos três tubos de alumínio.

Os achados de ovos de ascarídeos, que não foram experimentalmente introduzidos no sedimento do sambaqui Sernambetiba, e de ovos de parasitos do filo Acanthocephala e superfamílias Heterakoidea e Ascaridoidea em sedimentos arqueológicos do sambaqui Guapi representam os primeiros achados de vestígios de parasitos em sambaquis do Rio de Janeiro, sendo os achados do sambaqui Guapi únicos neste tipo de sítio no Brasil.

## 7- CONCLUSÃO:

- Os resultados relacionados ao experimento de percolação vertical de ovos de *A. lumbricoides* indicam que este fenômeno não parece interferir na preservação e consequentemente na raridade de achados de parasitos nestes sítios.
- A raridade dos achados de ovos de parasitos em sítios arqueológicos do tipo sambaqui também está ligada às técnicas parasitológicas empregadas e não somente a fatores tafonômicos que interferem na preservação dos ovos.
- Recomendamos a utilização das técnicas parasitológicas de centrífugo-flutuação com açúcar<sup>64</sup> e sedimentação espontânea<sup>61</sup> nas análises relacionadas a sedimentos provenientes de sambaquis.
- A técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco a 33%<sup>65</sup> mostrou pouca eficiência quando aplicada neste tipo de sedimento.

## REFERÊNCIAS:

1. Araújo A, Jansen AM, Bouchet F, Reinhard K, Ferreira LF. Parasites, the diversity of life, and paleoparasitology. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2003; 98 (1):05-11.
2. Ruffer MA. Note on the presence of *Bilharzia haematobia* in egyptian mummies of the twentieth dynasty (1250-1000 BC). *British Medical Journal* 1910; 1:16.
3. Gonçalves MLC, Araújo A, Ferreira LF. Paleoparasitologia no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva* 2002; 7(1):191-196.
4. Callen EO, Cameron TWM. A prehistoric diet as revealed in coprolites. *New Scientist* 1960; 8:35-40.
5. Ferreira LF, Reinhard KJ, Araújo A. Paleoparasitologia. Coleção Temas em Saúde. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ 2008. 128p.
6. Fugassa MH, Araújo A, Guichón RA. Quantitative paleoparasitology applied to archaeological sediments. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2006; 101(2): 29-33.
7. Bouchet F, Guidon N, Dittmar K, Harter S, Ferreira LF, Chaves SM, Reinhard K, Araújo A. Parasite remains in archaeological sites. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2003; 98(1):47-52.
8. Dittmar K, Teegen WR. The presence of *Fasciola hepatica* (liver-fluke) in humans and cattle from a 4.500 year old archaeological site in the Saale-Unstrut valley, Germany. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2003; 98(1):141-143.
9. Fugassa MH. Enteroparasitosis em poblaciones cazadoras-recolectoras de Patagonia Austral. Tese de Doutorado, Mar del Plata: Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología 2006.
10. Reinhard KJ. Parasitology as an interpretative tool in archaeology. *American Antiquity* 1992; 57 (2):231-245.
11. Taylor EL. Parasitic helminths in mediaeval remains. *The Veterinary record* 1955; 67:218-228.

12. Pike AW. The recovery of parasite eggs from ancient cesspit and latrine deposits: an approach to the study of early parasite infections. In: Brothwell D, Sandison AT (eds). *Diseases in Antiquity*. Londres: CC Thomas Springfield 1967. p.184-188.
13. Greig J. The investigation of a medieval barrel-latrine from Worcester. *Journal of Archaeological Science* 1981; 8:265-282.
14. Reinhard KJ, Mrozowski SA, Orloski KA. Privies, pollen, parasites and seeds: a biological nexus in historic archaeology. *Masca Journal* 1986; 4:31-36.
15. Jones AKG, Hutchinson AR, Nicholson C. The worms of Roman horses and other finds of intestinal parasite eggs from unpromising deposits. *Antiquity* 1988; 62:275-276.
16. Bouchet F. Étude parasitologique des chantiers archéologiques de Beauvais (Oise). *Revue Archéologique de Picardie* 1991; 3 (3-4):293–294.
17. Bouchet F. Apport de la parasitologie sur les chantiers archéologiques - l'exemple de la ville de Paris. *Mémoires du Groupement archéologique de Seine-et-Marne* 1993; 1:55-61.
18. Bouchet F. Recovery of helminth eggs from archaeological excavations of the Grand Louvre (Paris, France). *Journal of Parasitology* 1995; 81:785-787.
19. Bouchet F, Pétrequin P, Paicheler JC, Dommelier S. Première approche paléoparasitologique du site néolithique de Chalain (Jura, France). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 1995; 88:265-268.
20. Bouchet F, Paicheler JC. Presumption of bilharziose on an archaeological site from XV<sup>e</sup> century in Montbéliard (Doubs, France). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Série III* 1995; 318:811-814.
21. Bouchet F, Harter S, Paicheler JC, Araújo A, Ferreira LF. First recovery of *Schistosoma mansoni* eggs from a latrine in Europe (15-16th centuries). *Journal of Parasitology* 2002; 88(2):404-405.
22. Bouchet F, Baffier D, Girard M, Morel PH, Paicheler JC, David F. Palaeoparasitology in a pleistocene context: initial observations in the grande grotte at

Arcy-sur-Cure (Department of the Yonne, France). Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Série III 1996; 319:147-151.

23. Horne PD, Tuck JA. Archaeoparasitology at a 17th century colonial site in Newfoundland. Journal of Parasitology 1996; 82(3):512-515.

24. Rousset JJ, Heron C, Metrot P. Helminthoses humaines chez les Gaulois. Histoire des Sciences Médicales 1996; 30(1):41-46.

25. Bouchet F, Bentrad S, Paicheler JC. Enquête épidémiologique sur les helminthiases à la cour de Louis XIV. Médecine Sciences 1998. 14(4):463-466.

26. Bouchet F, West D, Lefèvre C, Corbett D. Identification of parasitoses in a child burial from Adak Island (Central Aleutian Islands, Alaska). Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Série III 2001; 324(2):123-127.

27. Faulkner CT, Cowie SE, Martin PE, Martin SR, Mayes CS, Patton S. Archeological evidence of parasitic infection from the 19th century company town of Fayette, Michigan. Journal of Parasitology 2000. 86(4):846-849.

28. Dommelier-Espejo S. Contribution à l'étude paléoparasitologique des sites néolithiques en environnement lacustre dans les domaines jurassien et Péri-alpin. Tese de Doutorado, Reims: Université de Reims 2001.

29. Han ET, Guk SM, Kim JL, Jeong HJ, Kim SN, Chai JY. Detection of parasite eggs from archaeological excavations in the Republic of Korea. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2003; 98 (1):123-126.

30. Matsui A, Kanehara M, Kanehara M. Paleoparasitology in Japan - discovery of toilet features. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2003; 98 (1):127-136.

31. Dark P. New evidence for the antiquity of the intestinal parasite *Trichuris* (whipworm) in Europe. Antiquity 2004; 78(301):676-681.

32. Fernandes A, Ferreira LF, Gonçalves MLC, Bouchet F, Klein CH, Iguchi T, Sianto L, Araújo A. Intestinal parasite analysis in organic sediments collected from a 16th-century belgian archeological site. Cadernos de Saúde Pública 2005; 21(1):329-332.

33. Le Bailly M, Leuzinger U, Schlichtherle H, Bouchet F. Diphyllbothrium: neolithic parasite? *Journal of Parasitology* 2005; 91(4): 957–959.
34. Fugassa MH, Guichón RA. Nuevos aportes a la paleoparasitología del sitio arqueológico “Nombre de Jesús” (S.XVI), Cabo Virgenes, Argentina. *Revista argentina de antropología biológica* 2006; 8:73-83.
35. Fugassa MH, Barberena R. Cuevas y zoonosis antiguas: paleoparasitología del sitio Orejas de Burro 1 (Santa Cruz, Argentina). *Magallania (Chile)* 2006; 34(2):57-62, 2006.
36. Le Bailly M, Gonçalves MLC, Lefèvre C, Roper DC, Pye JW, Araújo A, Bouchet F. Parasitism in Kansas in the 1800s – a glimpse to the past through the analysis of grave sediments from Meadowlark cemetery. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2006; 101(2):53–56.
37. Fugassa MH, Sardella NH, Guichón RA, Denegria GM, Araújo A. Paleoparasitological analysis applied to museum-curated sacra from meridional patagonian collections. *Journal of Archaeological Science* 2008; 35:1408-1411.
38. Reinhard KJ, Araújo A, Sianto L, Costello JG, Swope K. Chinese liver flukes in latrine sediments from Wong Nim’s property, San Bernardino, California: archaeoparasitology of the Caltrans District headquarters. *Journal of Parasitology* 2008; 94(1):300- 303.
39. Seo M, Oh CS, Chai JY, Lee SJ, Park JB, Lee BH, Park JH, Cho GH, Hong DW, Park HU, Shin DH. The influence of differential burial preservation on the recovery of parasite eggs in soil samples from korean medieval tombs. *Journal of Parasitology* 2010; 96(2):366-370.
40. Mitchell PD, Anastasiou E, Syon D. Human intestinal parasites in crusader Acre: evidence for migration with disease in the medieval period. *International Journal of Paleopathology* 2011; 1(3-4):132-137.
41. Le Bailly M, Landolt M, Bouchet F. First world war german soldier intestinal worms: an original study of a trench latrine in France. *Journal of Parasitology* 2012; 98(6):1273-1275.

42. Jaeger LH, Taglioretti V, Fugassa MH, Dias O, Neto J, Iñiguez AM. Paleoparasitological results from XVIII century human remains from Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Tropica* 2012; 125(3):282-286.
43. Gaspar MD. Sambaqui: arqueologia do litoral brasileiro. 2ª edição. Rio de Janeiro: Jorge Zahar 2004.p.89.
44. Gaspar MD, DeBlasis P, Fish SK, Fish PR. Sambaqui (shell mound) societies of coastal Brazil. In: Silverman H, Isbell WH (eds.). *Handbook of South American Archaeology*. Ed. Springer; 2008. p: 319-335.
45. Gaspar MD. Os ocupantes pré-históricos do litoral brasileiro. In: Tenório MC. (org.). *Pré-História da Terra Brasilis*. Rio de Janeiro: Ed. UFRJ; 1999. p. 159-169.
46. Heredia OR, Beltrão MCMC. Mariscadores e pescadores pré-históricos do litoral centro-sul brasileiro. In: Schmitz PI (ed.). *Estudos de arqueologia e pré-história brasileira, em memória de Alfredo Teodoro Rusins*. Pesquisas. Série Antropologia São Leopoldo 1980; 31:101-119.
47. Giannini PCF, Villagran X, Fornari M, Nascimento Júnior DR, Menezes PML, Tanaka APB, Assunção DC, DeBlasis P, Amaral PGC. Interações entre evolução sedimentar e ocupação humana pré-histórica na costa centro-sul de Santa Catarina, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Série Ciências Humanas* 2010; 5(1):105-128.
48. Klokler DM. Construindo ou deixando um sambaqui? Análise de sedimentos de um sambaqui do litoral meridional brasileiro – processos formativos. Região de Laguna-SC. Dissertação de Mestrado. São Paulo: Museu de Arqueologia e Etnologia, Universidade de São Paulo 2001.
49. Guimarães MSBC. Do lixo ao luxo: as premissas teórico-metodológicas e a noção de sambaqui. *Boletim do Museu Nacional* 2003; 63:1-23.
50. Lima TA. Em busca dos frutos do mar: os pescadores-coletores do litoral Centro-Sul do Brasil. *Revista USP, São Paulo* 1999-2000; 44:270-327.
51. Prous, A. *Arqueologia Brasileira*. 1ª edição. Brasília: Universidade de Brasília 1992. p. 203.

52. Paz RARP, Beltrão M. Os sambaquis brasileiros como estratégia de ocupação do litoral. *Revista do Instituto Histórico e Geográfico Brasileiro* 2010; 446:163-194.
53. Wesolowski V, Mendonça de Souza SMF, Reinhard KJ, Ceccantini G. Evaluating microfossil content of dental calculus from brazilian sambaquis. *Journal of Archaeological Science* 2010; 37(6):1326-1338.
54. Tenório MC. Os fabricantes de machado da Ilha Grande. In: Tenório MC (Org.). *Pré-história da terra Brasilis*. Rio de Janeiro: Ed. UFRJ; 1999. p. 233-246.
55. Gaspar MD. Uma Reconstituição do modo de vida dos Sambaquieiros: pescadores, coletores e caçadores pré-históricos que ocuparam o litoral brasileiro. In: Tenório MC, Franco TC (Orgs.). *Seminário para implantação da temática pré-história brasileira no ensino de 1º, 2º, 3º graus*. Rio de Janeiro: UFRJ/MN; 1994.
56. Pinto DC. Concha sobre concha: construindo sambaquis e a paisagem do recôncavo da Baía de Guanabara. *Dissertação de Mestrado*. Rio de Janeiro: Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro 2009.
57. Tenório MC. O lugar dos aventureiros: identidade, dinâmica de ocupação e sistema de trocas no litoral do Rio de Janeiro há 3500 anos antes do presente. *Tese de Doutorado*. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul 2003.
58. Bouchet F, Lefèvre C, West D, Corbett D. First paleoparasitological analysis of a midden in the Aleutian Islands (Alaska): results and limits. *Journal of Parasitology* 1999; 85(2):369-372.
59. Bathurst R. Archaeological evidence of intestinal parasites from coastal shell middens. *Journal of Archaeological Science* 2005; 32(1):115-123.
60. Teixeira-Santos I. Resíduos alimentares, infecções parasitárias e evidência do uso de plantas medicinais em grupos pré-históricos das Américas. *Dissertação de Mestrado*. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz 2010.
61. Lutz A. O *Schistosomum mansoni* e a Schistosomatose segundo observações feitas no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1919; 11:121-155.

62. Leles D. Paleogenética e paleoepidemiologia de *Ascaris* sp. (Linnaeus, 1758) e *Trichuris* sp. (Roederer, 1761). Tese de Doutorado. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz 2010.
63. Caldwell FC, Caldwell EL. Preliminary report on observations on the development of ova of pig and human *Ascaris* under natural conditions and studies of factors influencing development. *Journal of Parasitology* 1928; 14:254-260.
64. Sheather AL. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 1923; 36:266-275.
65. Faust EC, Sawitz W, Tobie J, Odom V, Peres C, Lincicome DR. Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminthes in feces. *Journal of Parasitology* 1939; 25(3):241-262.
66. Assis MA. Florística e caracterização das comunidades vegetais da planície costeira de Picinguaba, Ubatuba-SP. Tese de Doutorado. Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas 1999.
67. Buso Júnior AA. Dinâmica ambiental holocênica (vegetação, clima e nível relativo marinho) baseada em estudos interdisciplinares de alta resolução, no litoral norte do estado do Espírito Santo. Dissertação de Mestrado. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo 2010.
68. Neto P. Percolação ou agitação, na química dos complexos sorptivos do solo. *Bragantia* 1942; 2(3)93-99.
69. Sagara N, Yamanaka T, Tibbett M. Soil fungi associated with graves and latrines: toward a forensic mycology. In: Tibbett M, Carter DO (orgs.). *Soil analysis in forensic taphonomy: chemical and biological effects of buried human remains*. Nova Iorque: CRC Press; 2008. p. 67-107.
70. van Geel B, Buurman J, Brinkkemper O, Schelvis J, Aptroot A, van Reenen G, Hakbijl T. Environmental reconstruction of a Roman Period settlement site in Uitgeest (The Netherlands), with special reference to coprophilous fungi. *Journal of Archaeological Science* 2003; 30:873–883.

71. Aptroot A, van Geel B. Fungi of the colon of the Yukagir Mammoth and from stratigraphically related permafrost samples. *Review of Palaeobotany and Palynology* 2006; 141:225–230.
72. van Geel B, Guthrie RD, Altmann JG, Broekens P, Bull ID, Gill FL, Jansen B, Nieman AM, Gravendeel B. Mycological evidence of coprophagy from the feces of an Alaskan Late Glacial mammoth. *Quaternary Science Reviews* 2011; 30(17):2289-2303.
73. Beltrão MCMC, Herédia OR, Gaspar de Oliveira MDB, Nascimento SMN. Coletores de moluscos litorâneos e sua adaptação ambiental. *Arquivos do Museu de História Natural* 1978; 3:97-116.
74. Gaspar MD. Aspectos da organização social de um grupo de pescadores, coletores e caçadores: Região compreendida entre a Ilha Grande e o delta do Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro. Tese de doutorado. São Paulo: Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo 1991.p. 362.
75. Mendonça MLTG, Godoy JM. Datação radiocarbônica de sítios arqueológicos do tipo sambaqui pela técnica de absorção de CO<sup>2</sup>: uma alternativa à síntese benzênica. *Química Nova* 2004; 27(2):323-325.
76. Beltrão MCMC, Herédia OR, Rabello AMC, Perez RAR. Pesquisas arqueológicas no sambaqui de Sernambetiba. *Arquivos do Museu de História Natural* 1982; 6/7:145-155.
77. Souza RCCL, Lima TA, Silva E. Conchas marinhas de sambaquis do Brasil. 1ª edição. Rio de Janeiro: Technical Books 2011.
78. Mendonça de Souza SMF, Mendonça de Souza AAC. Pescadores e recoletores do litoral do Rio de Janeiro. *Arquivos do Museu de História Natural* 1981-1982; (6/7):109-130.
79. Stoll NR. Investigations on the control of hookworm disease. XV – An effective method of counting hookworm eggs in feces. *American Journal of Hygiene* 1923; 3:59-70.

80. De Carli A. Demonstração e Quantificação de Ovos nas Fezes. In: De Carli A (org.). Parasitologia Clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. São Paulo: Atheneu; 2007. p. 131, 132.
81. Cruz LM, Allanson M, Kwa B, Azizan A, Izurieta R. Morphological changes of *Ascaris* spp. eggs during their development outside the host. Journal of Parasitology 2012; 98(1):63-68.
82. Huysman F, Verstraete W. Water-facilitated transport of bacteria in unsaturated soil columns: influence of inoculation and irrigation methods. Soil biology & biochemistry 1993; 25(1):91-97.
83. Hekman WE, Heijnen CE, Burgers SLGE, van Veen JA, van Elsas JD. Transport of bacterial inoculants through intact cores of two different soil as affected by water percolation and the presence of wheat plants. Federation of European Microbiological Societies 1995; 16:143-158.
84. Guimarães, VF, Cruz IV, Hagler AN, Mendonca-Hagler LC, van Elsas, JD. Transport of genetically modified *Pseudomonas fluorescens* and its parent strain through undisturbed tropical soil cores. Applied Soil Ecology 1997; 7:41-50.
85. Li Q, Logan BE. Enhancing bacterial transport for bioaugmentation of aquifers using low ionic strength solutions and surfactants. Water research 1999; 33(4):1090-1100.
86. Banks MK, Yu W, Govindaraju RS. Bacterial adsorption and transport in saturated soil columns. Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering 2003; 38(12):2749-2758.
87. Buchan GD, Flury M. Pathogen transport by water. In: Stewart BA, Howell TA (eds.). Encyclopedia of Water Science. Nova Iorque: Marcel Dekker; 2004. p. 1-4.
88. Semenov AV, van Overbeek L, van Bruggen AHC. Percolation and survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium in soil amended with contaminated dairy manure or slurry. Applied and Environmental Microbiology 2009; 75(10):3206-3215.

89. Schinner T, Letzner A, Liedtke S, Castro FD, Eydelnant IA, Tufenkji N. Transport of selected bacterial pathogens in agricultural soil and quartz sand. *Water Research* 2010; 44:1182-1192.
90. Camacho M, Pessanha T, Leles D, Dutra JMF, Silva R, Mendonça de Souza S, Araújo A. Lutz's spontaneous sedimentation technique and the paleoparasitological analysis of sambaqui (shell mound) sediments. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2013; 108(2):155-159.
91. Jaskoski BJ, Egan TP. Age resistance of swine ascarid eggs. *Transactions of the American Microscopical Society* 1953; 72:179–184.

## **ANEXO 1**

Quadros comparativos com os resultados finais obtidos nas análises dos sedimentos das camadas contidas nos tubos de alumínio 1, 2 e 3 e controles.

**Quadro comparativo A** – Resultados finais referentes à recuperação dos ovos de *Ascaris lumbricoides* experimentalmente introduzidos nos sedimentos dos tubos de alumínio 1 (arenoso), 2 (areno-argiloso) e 3 (argiloso) com relação aos diferentes processos de análise adotados.

Procedimentos de análise adotados	Recuperação de ovos de <i>A. lumbricoides</i> experimentalmente introduzidos		
	Tubo 1 (arenoso)	Tubo 2 (areno-argiloso)	Tubo 3 (argiloso)
Sedimentos captados pelos cálices de fundo cônico durante o experimento de percolação.	-	-	-
Sedimentos das camadas localizadas no interior dos tubos de alumínio.	+ (quatro primeiras camadas)	+ (duas primeiras camadas)	+* (duas primeiras camadas)

\* ovo de ascarídeo (não introduzido)

**Quadro comparativo B** – Resultados finais referentes às análises dos sedimentos controle dos tubos de alumínio 1 (arenoso), 2 (areno-argiloso) e 3 (argiloso) no que se refere às técnicas parasitológicas empregadas.

Técnicas parasitológicas empregadas	Vestígios de parasitos recuperados*		
	Controles Tubo 1 (arenoso)	Controles Tubo 2 (areno-argiloso)	Controles Tubo 3 (argiloso)
Centrífugo-flutuação com Sulfato de Zinco a 33% <sup>65</sup>	-	-	-
Centrífugo-flutuação com açúcar (d=1300) <sup>64</sup>	-	-	+*
Sedimentação Espontânea <sup>61</sup>	+**	-	-

\*não foram recuperados ovos de *Ascaris lumbricoides*.

+\* ovo de ascarídeo (89 µm x 64 µm).

+\*\* ovos de ascarídeo (98 µm x 75 µm).

## **ANEXO 2**

Artigo publicado na revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz sobre a eficiência da técnica de sedimentação espontânea na recuperação dos ovos de parasitos no sedimento do sambaqui Guapi.

## Lutz's spontaneous sedimentation technique and the paleoparasitological analysis of *sambaqui* (shell mound) sediments

Morgana Camacho<sup>1</sup>, Thaíla Pessanha<sup>1</sup>, Daniela Leles<sup>2</sup>, Juliana MF Dutra<sup>1</sup>,  
Rosângela Silva<sup>3</sup>, Sheila Mendonça de Souza<sup>1</sup>, Adauto Araujo<sup>1/+</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Paleoparasitologia, Departamento de Endemias Samuel Pessoa, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

<sup>3</sup>Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil

*Parasite findings in sambaquis (shell mounds) are scarce. Although the 121 shell mound samples were previously analysed in our laboratory, we only recently obtained the first positive results. In the sambaqui of Guapi, Rio de Janeiro, Brazil, paleoparasitological analysis was performed on sediment samples collected from various archaeological layers, including the superficial layer as a control. Eggs of Acanthocephala, Ascaridoidea and Heterakoidea were found in the archaeological layers. We applied various techniques and concluded that Lutz's spontaneous sedimentation technique is effective for concentrating parasite eggs in sambaqui soil for microscopic analysis.*

Key words: coprolites - paleoparasitology - *sambaqui* - archaeological sediments - helminthiasis - ancient diseases

The primary aim of paleoparasitology research is to establish the foundations of the origin and evolution of infectious diseases. Therefore, paleoparasitological studies are dedicated to the recovery and interpretation of parasite remains found in archaeological and paleontological material. The data obtained may be analysed using a paleoepidemiological approach (Ferreira 2011). Parasites may be preserved in coprolites, mummified bodies, latrine sediments and any other type of material found at archaeological and paleontological sites.

Shell mounds, or *sambaquis* (as they are known in Brazil), are archaeological sites intentionally built by prehistoric hunter/fisher/gatherer groups that inhabited the Brazilian coast. These sites are generally composed of several superposed layers of various types of materials, including hearth charcoals, ashes, clay, burnt/broken shells of different types, burnt animal bones and other organic remains. Shells represent the major component, but animal bones (especially fish bones) are also found (Gaspar 2004). These sites were built adjacent to fresh water sources, such as rivers and lakes, close to the seashore. As they are mainly located on the coast, these sites are exposed to tides, rainfall and flooding, which are characteristic of tropical latitudes, thus favouring both microorganism proliferation and poor preservation of organic material, including faecal material (Gaspar 2004, Leles 2010).

Despite the archaeological importance of these sites, records of parasite eggs found in *sambaquis* have only

been recently reported. The first positive result in Brazilian *sambaqui* soil samples was obtained in our laboratory by Teixeira-Santos (2010), who found an egg of *Trichuris* sp. in the sediment collected from the pelvic girdle of one skeleton of the *sambaqui* of Cubatão I, state of Santa Catarina, southern Brazil. This finding was supported by Leles (2010), who recovered *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* DNA in the pelvic girdle of another skeleton at the same archaeological site.

Since we began our paleoparasitological research in the 1980s, our laboratory has received soil samples from *sambaquis* for analysis. We used the recommended technique to recover parasites from soil samples (Caldwell & Caldwell 1928). Initial analyses were negative for parasite remains. A few years later, we applied a technique recommended by Jones (1982) on other *sambaqui* samples, which also yielded negative results. Fugassa et al. (2006) have modified the technique described by Jones (1982), which increased the sediment quantity and was successfully applied in parasite research involving archaeological soil. This technique also yielded negative results when applied to *sambaqui* samples.

Our laboratory team has examined 121 *sambaqui* samples, but each sample tested negative for parasites. As the recommended techniques for parasitological analysis of soil (Caldwell & Caldwell 1928, Jones 1982) failed to recover parasite eggs, spontaneous sedimentation (Lutz 1919) was then applied in combination with the technique established by Fugassa et al. (2006). Since the first analysis of ancient material in our laboratory, the spontaneous sedimentation technique (Lutz 1919) was applied for parasite research in coprolites, but never for soil analyses.

We recommend the spontaneous sedimentation technique described by Lutz (1919) to recover parasite vestiges in sediment samples from *sambaqui* archaeological sites. Herein, we report the first results and discuss the techniques.

Financial support: PRONEX/FAPERJ, CNPq  
+ Corresponding author: adauto@ensp.fiocruz.br  
Received 7 April 2012  
Accepted 20 July 2012

## MATERIALS AND METHODS

The samples analysed in this study originated from the *sambaqui* of Guapi located in the municipality of Guapimirim, Rio de Janeiro, close to the Guapi River (Pinto 2009). The coordinates of this site, which is still under study, are 22°38'9.90"S 42°56'10.74"W. No radiocarbon dates are available.

A multidisciplinary team from the Nacional Museum of Federal University of Rio de Janeiro collected a total of 14 sediment samples isolated from different archaeological layers and the surface layer served as a control. The samples were sent to the laboratory of paleoparasitology for analyses.

After applying the Fugassa et al. (2006) flotation technique, which yielded negative results for parasites, we applied the spontaneous sedimentation technique (Lutz 1919). We used 5 g, which is a little more than the amount used for fresh faeces (2-4 g).

The samples were rehydrated in 0.5% trisodium phosphate aqueous solution ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) for 72 h (Callen & Cameron 1960) to recover the desiccated organic remains. Next, we applied the spontaneous sedimentation (Lutz 1919) technique to concentrate the parasite eggs, larvae and cysts. For the *sambaqui* soil analyses, we separated 5 g of the sediment and proceeded with the standard recommendations. The rehydrated sediment was disaggregated with a glass rod, strained through triple doubled gauze on a glass funnel into conical glass jars and left to sediment for 24 h (Fig. 1). Drops of the sediment were taken from the bottom with Pasteur pipettes and 20 slides of each sample were prepared and examined using a bright-field microscope. Parasite eggs and other microscopic residues were measured with an ocular micrometre. Digital photographs were taken at 400X.

## RESULTS

The samples from the surface layer were negative for parasite eggs, larvae and cysts. Two of the eight samples isolated from the archaeological layers were positive for Heterakoidea, Acanthocephala and Ascaridoidea eggs. The measurements of the eggs and the possible hosts of the parasites are shown in Table I.

Eggs of the superfamily Heterakoidea are either ovoid or round-shaped, with a double smooth thick eggshell and amorphous content (Fig. 2). Ascaridoidea eggs are yellowish and oval-shaped, with the wrinkled mammillated eggshell characteristics of the family Ascaridae (Rey 2008) (Fig. 3).

Acanthocephala eggs are characteristically elliptical with only the inner eggshell preserved. The outer eggshell is poorly preserved with an amorphous contour (Fig. 4A, B).

The samples were also analysed for coprophagic and nematophagous fungi and mites. The samples that tested positive for parasite eggs did not contain spores that were morphologically similar to either coprophagic or nematophagous fungi (van Geel et al. 2003). In a sample that was negative for parasites, a significant quantity of coprophagic and nematophagous fungal spores were found (Table II). Mites were not found in the samples.



Fig. 1: conical glass jar used for Lutz's sedimentation technique.

## DISCUSSION

Despite the archaeological significance of the Brazilian *sambaquis* and other similar archaeological sites, there are few records of parasite eggs found in shell mounds. Bathurst (2005) has identified *Diphyllobothrium* spp, *Ascaris lumbricoides*, *Nanophyetus salmincola* and tapeworm eggs in a Canadian midden using sample centrifugation and by analysing the top layer of the centrifuged sediment. Bouchet et al. (1999) have identified *Diphyllobothrium* spp and hookworm eggs in midden material isolated in Alaska, United States of America, using 0.5% glycerinated water suspensions, sedimentation and flotation techniques.

The technique described by Caldwell and Caldwell (1928) was first used in our laboratory to identify parasites in the first half of the sediment samples, which consists primarily of *sambaqui* sediments. This approach failed to yield positive results. Next, the flotation technique was used, especially after the successful application in ancient sediments that were exposed to thermal and chemical stress, high percolation and significant amounts of sand, which occur in the Patagonian region (Fugassa et al. 2006). These conditions are similar to those found in *sambaquis*. However, despite the positive results obtained in Patagonian soil, the sediment analysis results from the *sambaquis* were negative for parasites.

The spontaneous sedimentation technique (Lutz 1919) was originally developed for fresh faeces analysis aimed to diagnose *Schistosoma mansoni* eggs in faeces. The technique is recommended to detect most protozoan and helminth intestinal parasites and it is considered to be highly sensitive, easily applicable and inexpensive (Ferreira 1966). In 1934, Hoffman, Pons and Janer described the same technique for *S. mansoni* egg research (Hoffman et al. 1934).

Jiménez et al. (2012) tested both the spontaneous sedimentation and flotation techniques in coprolites isolated in Mexico. The results were better with the former technique, as it allowed for the retrieval and identifica-

TABLE I

Measurements of parasite eggs found in *sambaqui* of Guapi archaeological sediments, Rio de Janeiro, Brazil

Parasite eggs	Host	Length (µm)	Width (µm)
Heterakoidea (Fig. 2)	Fowl, rodents, reptiles and marsupials	92.8	85.6
Ascaridoidea (Fig. 3)	Humans, chimpanzee, gorilla, gibbon, rhesus monkey, cattle, sheep, goat, swine, horse, dog, cat and poultry	79.3	66.2
Acanthocephala (Fig. 4A)	Mammals, fish, amphibians	113.6	53.1
Acanthocephala (Fig. 4B)	and birds	170.6	90.5

tion of more species of parasites. Furthermore, the spontaneous sedimentation technique (Lutz 1919) allows for the concentration of a great number of parasite eggs in the conical bottom of the vessel, thereby enabling the recovery of small quantities of eggs.

Lutz's spontaneous sedimentation technique has also been applied in coprolites for paleoparasitological analysis, with the first studies conducted in our laboratory. The content retained in gauze should be analysed for food remains in a stereomicroscope. We recommend preparing 20 slides for each coprolite sample to be examined by light microscopy. The remaining sediment should be stored at a low temperature in a refrigerator and other samples should be preserved in 10% formaldehyde acetic solution (Raillet & Henry solution). Lutz's spontaneous sedimentation technique was selected as the best technique for archaeological samples, as this method allows the preservation of all material used during the various steps, and no material is lost, which is the primary goal when dealing with archaeological material.

After obtaining negative results with the technique developed by Fugassa et al. (2006), the spontaneous sedimentation (Lutz 1919) technique was successfully applied by Teixeira-Santos (2010) on *sambaqui* sediment samples, which yielded positive results for parasite eggs (*T. trichiura*). Teixeira-Santos (2010) suggested the use of this technique when the archaeological site is characterised by taphonomic factors that hamper paleoparasitological diagnoses, as is the case in *sambaqui* soil.

Taphonomic factors probably represent the major influence hampering the identification of parasite eggs in *sambaquis* (Leles et al. 2010). Coprophagic and nematophagous fungi, mites and other invertebrates are commonly found in *sambaqui* soil, which contributes to the poor preservation of organic material from the moment of its deposition into the soil until the time of storage and transportation to the laboratory (Sagara et al. 2008). The absence of parasite eggs in some samples can possibly be explained by the significant quantity of coprophagic and nematophagous fungi found in *sambaqui* soil (Leles et al. 2010). However, to understand the basic principles of the degeneration of parasite eggs by this type of fungi, further investigation is required.

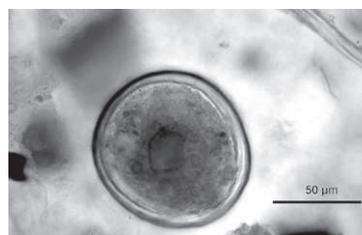


Fig. 2: egg of the superfamily Heterakoidea found in *sambaqui* of Guapi archaeological sediments, Rio de Janeiro, Brazil.

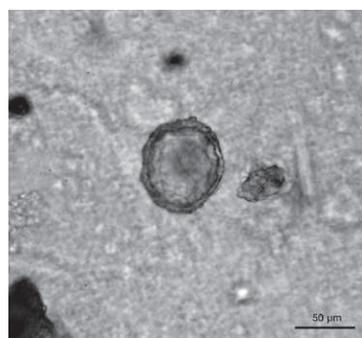


Fig. 3: egg of superfamily Ascaridoidea found in *sambaqui* of Guapi archaeological sediments, Rio de Janeiro, Brazil.

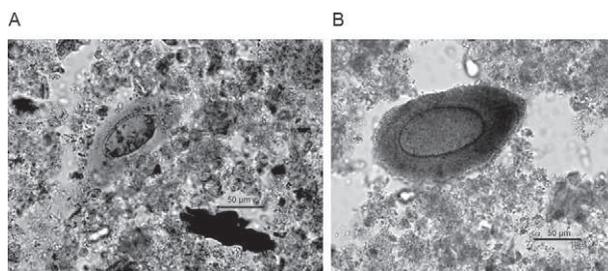


Fig. 4A, B: eggs of phylum Acanthocephala found in *sambaqui* of Guapi archaeological sediments, Rio de Janeiro, Brazil.

TABLE II  
Relation between parasite positivity  
and fungi spores found in each sample of *sambaqui*  
of Guapi archaeological sediments, Rio de Janeiro, Brazil

Samples	Parasites eggs (n)	Fungi spore not considered coprophagic (n)	Fungi spores morphologically similar to coprophilous fungi <sup>a</sup> (n)
1	-	20	1
2	-	23	1
3	-	20	2
4	-	8	-
5	-	19	1
6	-	9	-
7	-	-	133
8	2 <sup>b</sup>	-	-
9	-	3	-
10	3 <sup>c</sup>	1	-
11	-	1	-
12	-	1	-
13	-	-	-
14	-	1	-

a: Van Geel et al. (2003); b: one egg of Heterakoidea; c: two eggs of Acanthocephala and one egg of Ascaridoidea.

The parasite eggs found in the *sambaqui* of Guapi have prompted interesting speculations. Although the Acanthocephala and Heterakoidea species are not commonly found in humans, they may occasionally cause true infections in the human host. Interestingly, Acanthocephala eggs have been found at archaeological sites associated with humans (Fry & Hall 1969, Moore et al. 1969, Fry 1970, Schmidt 1971, Ferreira et al. 1989, Fugassa et al. 2011). Parasites of the Acanthocephala phylum are primarily transmitted by the consumption of infected arthropods, which act as intermediate hosts (Moore et al. 1969, Vicente et al. 1997). Birds, fish and mammals, including humans, represent the definitive vertebrate hosts.

Ascaridoidea eggs are commonly found in ancient samples. Since the earliest paleoparasitological studies, *Ascaris* eggs have been found in archaeological samples, especially in Europe (Taylor 1955, Pike 1967, Greig 1981, Jones et al. 1988, Bouchet 1991, 1993, 1995, Bouchet & Paicheler 1995, Bouchet et al. 1996, 1998, Rousset et al. 1996, Fernandes et al. 2005, Le Bailly et al. 2005). At archaeological sites of South America, *Ascaris* sp. eggs are rarely found (Ferreira et al. 1980, Patrucco et al. 1983, Gonçalves et al. 2003, Fugassa & Guichón 2006, Fugassa et al. 2008), which is apparently because the eggs are poorly preserved (Leles et al. 2010). Leles (2010) has suggested that coprophagic fungi may interfere with egg and, consequently, DNA preservation. A large number of mammals, including humans, are infected by species of these parasites. In the present case, based on the morphological parameters of only one egg, it is impossible

to identify the species. Therefore, we conclude that the results suggest an ascarid-like egg.

Parasites of the Heterakoidea superfamily display a cosmopolitan distribution. Species of this superfamily have been found infecting various orders of mammals, especially rodents (Jiménez & Gardner 2004). There is only a record of Heterakoidea eggs in ancient samples (Bouchet 1991). Therefore, the present finding is relevant because it not only depicts parasite eggs found in a difficult preservation environment, but it also suggests an unusual parasite associated with human remains.

Soil contamination by faecal material in modern times cannot be ignored, especially considering parasite egg dispersion by percolation. Soil disturbance, tide movement, floods and heavy rainfall can easily disperse eggs. Therefore, careful excavations to establish archaeological contexts are needed. Although the *sambaqui* of Guapi is still under study, the archaeological layers are defined. The results presented here represent the first findings of parasite eggs that are well preserved in the *sambaquis* and demonstrate that the spontaneous sedimentation technique (Lutz 1919) is recommended for concentrating parasite eggs.

Although the techniques described by Caldwell and Caldwell (1928), Jones (1982) and Fugassa et al. (2006) are indicated for parasitological analyses of various types of sediment, the spontaneous sedimentation technique (Lutz 1919) yielded better results than the others in the case of *sambaqui* sediments. The techniques that were described by Jones (1982) and modified by Fugassa et al. (2006) should be used in archaeological soil sediments. However, we recommend the spontaneous sedimentation (Lutz 1919) technique for *sambaqui* samples; this technique was successfully applied in this report for paleoparasitological research.

The finding of Acanthocephala, Ascaroidea and Heterakoidea eggs represents the first report of the presence of these parasites in *sambaqui* sediments. Although the archaeological context is still under study, the findings show that parasite eggs could be preserved in *sambaqui* soil.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

To the archaeological team of Nacional Museum, UFRJ, for collecting the samples.

#### REFERENCES

- Bathurst RR 2005. Archaeological evidence of intestinal parasites from coastal shell middens. *J Archaeol Sci* 32: 115-123.
- Bouchet F 1991. Étude parasitologique des chantiers archéologiques de Beauvais (Oise). *Rev Archeol Picardie* 3/4: 293-294.
- Bouchet F 1993. Apport de la parasitologie sur les chantiers archéologiques. L'exemple de la ville de Paris. *Mém Groupement Archeol de Seine-et-Marne* 1: 55-61.
- Bouchet F 1995. Recovery of helminth eggs from archaeological excavations of the Grand Louvre (Paris, France). *J Parasitol* 81: 785-787.
- Bouchet F, Baffier D, Girard M, Morel PH, Paicheler JC, David F 1996. Paleoparasitology in a Pleistocene context: initial observations in the Grande Grotte at Arcy-sur-Cure (Department of the Yonne, France). *CR Acad Sci Ser III* 319: 147-151.
- Bouchet F, Bentrad S, Paicheler JC 1998. Enquête épidémiologique sur les helminthiases à la cour de Louis XIV. *Médecine/Sciences* 14: 463-466.

- Bouchet F, Lefèvre C, West D, Corbett D 1999. First paleoparasitological analysis of a midden in the Aleutian Island (Alaska): results and limits. *J Parasitol* 85: 369-372.
- Bouchet F, Paicheler JC 1995. Paleoparasitology: presumption of bilharziose on an archaeological site from XV century of Montbeliard (Doubs, France). *CR Acad Sci Ser III* 318: 811-814.
- Caldwell FC, Caldwell EL 1928. Preliminary report on observations on the development of ova of pig and human *Ascaris* under natural conditions and studies of factors influencing development. *J Parasitol* 14: 254-260.
- Callen EO, Cameron TWM 1960. A prehistoric diet as revealed in coprolites. *New Sci* 8: 35-40.
- Fernandes A, Ferreira LF, Gonçalves MLC, Bouchet F, Klein CH, Iguchi T, Sianto L, Araújo A 2005. Intestinal parasite analysis in organic sediments collected from a 16th-century Belgian archeological site. *Cad Saude Publica* 21: 329-332.
- Ferreira LF 1966. Exame parasitológico de fezes. Estudo comparativo das principais técnicas. *Hospital (Rio J)* 70: 347-368.
- Ferreira LF 2011. Introdução à paleoparasitologia. In L Ferreira, KJ Reinhard, A Araújo, *Fundamentos da paleoparasitologia*, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 27-41.
- Ferreira LF, Araújo A, Confalonieri U 1980. The finding of eggs and larvae of parasitic helminths in archaeological material from Unai, Minas Gerais, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 74: 798-800.
- Ferreira LF, Araújo A, Confalonieri U, Chame M 1989. Acanthocephalan eggs in animal coprolites from archaeological sites from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 84: 201-203.
- Fry GF 1970. Preliminary analysis of Hogup Cave coprolites, Appendix III. In CM Aikens, *Hogup Cave*, The University of Utah Anthropological Papers 93, University of Utah Press, Salt Lake City, p. 247-250.
- Fry GF, Hall HJ 1969. Parasitological examination of prehistoric human coprolites from Utah. *Proc Utah Acad Sci Art Letters* 46: 102-105.
- Fugassa MH, Araújo A, Guichón RA 2006. Quantitative paleoparasitology applied to archaeological sediments. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101 (Suppl. II): 29-33.
- Fugassa MH, Guichón RA 2006. Nuevos aportes a la paleoparasitología del sitio arqueológico "Nombre de Jesús" (s.XVI), Cabo Virgenes, Argentina. *Rev Arg Antropol Biol* 8: 73-83.
- Fugassa MH, Reinhard KJ, Johnson KL, Gardner SL, Vieira M, Araújo A 2011. Parasitism of prehistoric humans and companion animals from Antelope Cave, Mojave County, Northwest Arizona. *J Parasitol* 97: 862-867.
- Fugassa MH, Sardella NH, Guichón RA, Denegri GM, Araújo A 2008. Paleoparasitological analysis applied to museum-curated sacra from meridional Patagonian collections. *J Archaeol Sci* 35: 1408-1411.
- Gaspar MD 2004. *Sambaqui: arqueologia do litoral brasileiro*, 2nd ed., Jorge Zahar, Rio de Janeiro, 89 pp.
- Gonçalves MLC, Araújo A, Ferreira LF 2003. Human intestinal parasites in the past: new findings and a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 103-118.
- Greig J 1981. The investigation of a medieval Barrel-latrine from Worcester. *J Archaeol Sci* 8: 265-282.
- Hoffman WA, Pons JA, Janer JL 1934. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansonii. *Puerto Rico J Public Health Trop Med* 9: 283-291.
- Jiménez FA, Gardner SL 2004. The concerted evolution of mammals and nematodes (Heterakoidea: Aspidoderidae) in South America. Joint meeting of 49th Annual Meeting of the American Association of Veterinary Parasitologists and 79th Meeting of The American Society of Parasitologists, Philadelphia, July 24-28, p. 71.
- Jiménez FA, Gardner SL, Araújo A, Fugassa M, Brooks RH, Racz E, Reinhard KJ 2012. Zoonotic and human parasites of inhabitants of Cueva de los Muertos Chiquitos, Rio Zape Valley, Durango, Mexico. *J Parasitol* 98: 304-309.
- Jones AKG 1982. Recent finds of intestinal parasite ova at York, England. Proc Paleopathol As, 4th European Meeting, Middelburg, p. 7.
- Jones AKG, Hutchinson AR, Nicholson C 1988. The worms of Roman horses and other finds of intestinal parasite eggs from unpromising deposits. *Antiquity* 62: 275-276.
- Le Bailly M, Leuzinger U, Schlichtherle H, Bouchet F 2005. Diphylobothrium: neolithic parasite? *J Parasitol* 91: 957-959.
- Leles D 2010. *Paleogenética e paleoepidemiologia de Ascaris sp (Linnaeus, 1758) e Trichuris sp (Roederer, 1761)*, DSc Dissertation, Escola Nacional de Saúde Pública/Fiocruz, Rio de Janeiro, 162 pp.
- Leles D, Reinhard KJ, Fugassa M, Ferreira LF, Iñiguez AM, Araújo A 2010. A parasitological paradox: why is ascariis infection so rare in the prehistoric Americas? *J Archaeol Sci* 37: 1510-1520.
- Lutz A 1919. O *Schistosomum mansoni* e a schistosomatose, segundo observações feitas no Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 11: 121-155.
- Moore JG, Fry GF, Englert E 1969. Thomy-headed worm infection in North American prehistoric man. *Science* 163: 1324-1325.
- Patrucco R, Tello R, Bonavia D 1983. Parasitological studies of coprolites of pre-hispanic Peruvian populations. *Curr Anthropol* 24: 393-394.
- Pike AW 1967. The recovery of parasite eggs from ancient cesspit and latrine deposits: an approach to the study of early parasite infections. In D Brothwell, AT Sandison, *Diseases in antiquity*, CC Thomas Springfield, London, p. 184-188.
- Pinto DC 2009. *Concha sobre concha: construindo sambaquis e a paisagem no Recôncavo da Baía de Guanabara*, MSc Thesis, Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 161 pp.
- Rey L 2008. *Ascaris lumbricoides* e Ascariase. In L Rey, *Parasitologia*, 4th ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 585-597.
- Roussel JJ, Heron C, Metrot P 1996. Helminthoses humaines chez les Gaulois. *Hist Sci Med* 30: 41-46.
- Sagara N, Yamanaka T, Tibbett M 2008. Soil fungi associated with graves and latrines: toward a forensic mycology. In M Tibbett, DO Carter, *Soil analysis in forensic taphonomy: chemical and biological effects of buried human remains*, CRC Press, New York, p. 67-107.
- Schmidt GD 1971. Acanthocephalan infections of man, with two new records. *J Parasitol* 57: 582-584.
- Taylor EL 1955. Parasitic helminths in mediaeval remains. *Vet Rec* 67: 218-228.
- Teixeira-Santos I 2010. *Resíduos alimentares, infecções parasitárias e evidência do uso de plantas medicinais em grupos pré-históricos das Américas*, MSc Thesis, Escola Nacional de Saúde Pública, Fiocruz, Rio de Janeiro, 103 pp.
- van Geel B, Buurman J, Brinkkemper O, Schelvis J, Aptroot A, van Reenen G, Hakbijl T 2003. Environmental reconstruction of a Roman Period settlement site in Uitgeest (The Netherlands), with special reference to coprophilous fungi. *J Archaeol Sci* 30: 873-883.
- Vicente JJ, Rodrigues HO, Gomes DC, Pinto RM 1997. Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de Mamíferos. *Rev Bras Zool* 14: 452.