



Adelianna de Castro Costa

Subsídios para a Paleoparasitologia: análise de amostras de um sítio arqueológico do Nordeste brasileiro e comparação de métodos quantitativos

Adelianna de Castro Costa

Subsídios para a Paleoparasitologia: análise de amostras de um sítio arqueológico do Nordeste brasileiro e comparação de métodos quantitativos

Tese apresentada ao Programa de Pósgraduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Orientadora: Prof.^a Dra. Joseli Maria da Rocha Nogueira.

Coorientadoras: Prof.^a Dra. Shênia Patrícia Corrêa Novo e Prof.^a Dra. Morgana Camacho.

Título do trabalho em inglês: **Subsidies for Paleoparasitology**: analysis of samples from an archaeological site in Northeastern Brazil and comparison of quantitative methods.

Catalogação na fonte Fundação Oswaldo Cruz Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde Biblioteca de Saúde Pública

C837s Costa, Adelianna de Castro.

Subsídios para a paleoparasitologia: análise de amostras de um sítio arqueológico do Nordeste brasileiro e comparação de métodos quantitativos / Adelianna de Castro Costa. — 2021.

117 f.: il. color.; mapas; tab.

Orientador: Joselí Maria da Rocha Nogueira. Coorientadoras: Shênia Patrícia Corrêa Novo e Morgana Camacho. Tese (doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2021.

- 1. Parasitologia. 2. Paleopatologia. 3. Fezes parasitologia.
- 4. Doenças Parasitárias. 5. Técnicas de Laboratório Clínico.
- 6. Patoecologia. 7. Paleoepidemiologia. 8. Tafonomia. I. Título.

CDD - 23.ed. - 616.9

Adelianna de Castro Costa

Subsídios para a Paleoparasitologia: análise de amostras de um sítio arqueológico do Nordeste brasileiro e comparação de métodos quantitativos

Tese apresentada ao Programa de Pósgraduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Aprovada em: 28 de maio de 2021.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Maria Regiane Araújo Soares Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Sergio Augusto de Miranda Chaves Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Prof.^a Dra. Fernanda Nunes Santos Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

> Prof.^a Dra. Clara de Fátima Gomes Cavados Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Oswaldo Cruz

Prof.^a Dra. Morgana Camacho (Coorientadora) Fundação Oswaldo Cruz – BioManguinhos

Prof.^a Dra. Shênia Patrícia Corrêa Novo (Coorientadora) Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Oswaldo Cruz

Prof.^a Dra. Joseli Maria da Rocha Nogueira (Orientadora) Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Rio de Janeiro

AGRADECIMENTOS

Ao nosso Deus por proporcionar e permitir tudo, a começar pelo meu respirar. Ao meu esposo, Luciano, pela cumplicidade, amizade e amor. Aos meus filhos, Luanna e Álvaro, por serem os motivadores de qualquer evolução minha, em todos os âmbitos.

Ao meu trio de orientadoras, Joselí Nogueira, Morgana Camacho e Shênia Novo, por tudo, da paciência e amizade ao conhecimento compartilhado. Conhecê-las foi um presente, com menção especial à Jô pelo empenho, atenção, bom humor e proximidade no último ano. Tem minha admiração eterna.

À Paleoparasitologia por abrir minha mente a um mundo novo e fascinante.

À FIOCRUZ, RJ e PI, por tudo já feito pelo homem, pelo Brasil e pela ciência. Sinto orgulho profundo de ser parte. Agradeço também pelo incentivo financeiro nos meus períodos de imersão no Rio de Janeiro.

À Coordenadora Silvana Granado pelo empenho, atenção e sensibilidade que sempre ultrapassaram os muros da função. A todos os professores das disciplinas ministradas, por repartir um pouco do seus conhecimento e experiência. Aos colegas de turma, pelos ótimos momentos vividos, serão meus colegas fraterna e eternamente. Aos membros do meu Programa e ENSP, Coordenação e equipe das Secretarias, obrigada pela atenção e gentileza.

Aos membros das bancas avaliadoras, qualificação e defesa, toda minha admiração e agradecimento pelas valiosas contribuições.

À UFPI pela feliz parceria com a FIOCRUZ, me proporcionando viver essa realidade. Ao núcleo de pesquisa do meu *campus* CAFS, meu agradecimento por usufruir da estrutura do espaço laboratorial e equipamentos, de modo que eu concluísse o experimento em minha própria cidade. Agradeço a todos os colegas professores que colaboraram nessa minha fase de pesquisa, em especial à colega de trabalho e amiga professora Maria Regiane Araújo Soares. Grata também ao meu colega de trabalho e amigo Jailson Rodrigues pelo apoio e paciência no tratamento dos dados numéricos.

A todos sem exceção, família e amigos, citados ou não, que contribuíram importante passo de minha jornada pessoal e profissional, quer em Floriano, quer na Teresina ou nos períodos em que estive no Rio de Janeiro, obrigada!



RESUMO

Considerando interesse em melhor conhecer relação que parasito/hospedeiro/ambiente desde as primeiras civilizações, levou à indagações peculiares que culminaram na criação da Paleoparasitologia, e que esta apresenta a Patoecologia e Paleoepidemiologia como modernas abordagens de estudo, distintas, porém convergentes, o presente estudo objetivou analisar paleoparasitologicamente amostras de sedimentos e coprólitos provenientes do Sítio Arqueológico Pedra do Tubarão, Pernambuco, Brasil e com igual relevância, verificar, experimentalmente, a eficiência de técnicas quantitativas aplicadas em abordagens populacionais. As amostras inéditas provenientes do sítio foram analisadas com vistas a confirmar a existência de parasito e diagnosticá-lo morfometricamente. Na fase experimental, três metodologias internacionalmente reconhecidas, americana, inglesa e coreana, foram aplicadas em coprólito experimental e tiveram a eficiência de seus algoritmos testada, segundo a aplicação de um parâmetro, realizado em pool de fezes antes da dessecação extrema. Foram diagnosticados 70 ovos bem preservados de Spirometra sp. nas amostras oriundas no sítio arqueológico, resultado que conduziu à discussão de elementos arqueobioculturais desse achado. Resultados estes que levam à inferências, sob o prisma da Patoecologia, que o grupo populacional que ocupava o sítio Pedra do Tubarão poderia estar potencialmente em risco de infecção zoonótica por Spirometra sp., e que a manutenção deste parasito, provavelmente de origem felina, no cotidiano dos indivíduos por longo período, corrobora com potencial chance de desenvolvimento de esparganose como desfecho mais desfavorável para tal infecção. Na replicação dos métodos de quantificação de ovos por grama das escolas elencadas, foram aplicados testes estatísticos que nortearam a discussão da eficiência destes, bem como discutidos pontos peculiares de suas exequibilidades. O experimento comparativo possibilitou concluir que dentre as três metodologias aplicadas, a americana e a coreana foram as que mais se aproximaram do parâmetro, sendo recomendadas como elegíveis para realização de mais estudos que visem o estabelecimento de quantificação "padrão ouro" em análises paleoepidemiológicas populacionais em sítios com boa preservação.

Palavras-chave: Paleoparasitologia. Patoecologia. Paleoepidemiologia. Tafonomia. Coprólitos.

ABSTRACT

Since the first civilizations, the desire to better understand the host-parasite-environing relationship has led, over the years, to peculiar questions that culminated in the creatio Paleoparasitology, which in turn presents Pathoecology and Paleoepidemiology as its modern study approaches, which are distinct, though converging. In this context, this study aimed to conduct a paleoparasitological analysis of sediment and coprolite samples from the Archaeological Site of Pedra do Tubarão in Pernambuco, Brazil, and, equally important, to verify experimentally the efficiency of quantitative techniques applied in population approaches. The new samples from the site underwent rehydration, sedimentation, and microscopic analysis to confirm the parasite's existence and diagnose it morphometrically. The experimental phase consisted of stages that applied three internationally recognized methodologies (American, English, and Korean) in equal rates of experimental coprolite and tested the efficiency of their algorithms, according to the parameter application, as control technique, performed in the stool pool before extreme desiccation. Seventy well-preserved eggs of Spirometra sp. were diagnosed in the samples from the archaeological site, a result that led to discussing several archaeobiocultural elements of Pathoecology in this finding. When replicating the methods of quantification of eggs per gram of the listed international schools, statistical tests were applied, which guided the discussion about their efficiency, as well as the description and discussion of specific points of their feasibility. Parasitological results of the samples led to inferences, from the perspective of Pathoecology, which considered biotic and abiotic conditions found in the area, in addition to the subsistence habits of this population, and that the population group that occupied the Pedra do Tubarão site could potentially be at risk of zoonotic infection by Spirometra sp. The preservation of this parasite, probably of feline origin, in the daily life of individuals for a long period, corroborates the potential of developing sparganosis as the most unfavorable outcome for such infection. Aimed at obtaining subsidies for the application of paleoepidemiological methodologies, the comparative experiment performed allowed to conclude that among the three methodologies applied, the American and the Korean were the ones that came closest to the parameter, being recommended as eligible for further studies seeking to establish "gold standard" quantification in paleoepidemiological population analyzes in well-preserved sites.

Keywords: Paleoparasitology. Patoecology. Paleoepidemiology. Taphonomy. Coprolites.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Breve linha do tempo: o desenvolver da Paleoparasitologia década a década	14
Figura 2 -	Evolução cronológica das técnicas empregadas para o diagnóstico parasitológico de fezes	40
Figura 3 -	Localização geográfica do Estado do Pernambuco e do Parque Nacional do Vale do Catimbaú, Pernambuco, Brasil	47
Figura 4 -	Imagens da Pedra do Tubarão, Parque Nacional do Vale do Catimbaú, Pernambuco, Brasil	48
Figura 5 -	Organograma do percurso metodológico do estudo por tipo de abordagem Paleoparasitológica	54
Figura 6 -	Ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> . Lâmina montada na técnica de Stoll (quantificação-controle)	58
Figura 7 -	Coprólito experimental. A- Pesagem diária. B- Aspecto do coprólitos no dia final	59
Figura 8 -	Ovos de <i>Spirometra</i> sp. encontrados em coprólito felino/canino oriundo no sítio Pedra do Tubarão, Pernambuco, Brasil	65
Figura 9 -	Retirada manual de um verme em caso de esparganose ocular no Brasil. Mentz <i>et al.</i> , 2011	68
Figura 10-	Par ovo/esporo de <i>Lycopodium</i> e à direita, um esporo ampliado 100x	84
Figura 11-	Montagem das lâminas da técnica sul coreana	86
Figura 12-	Visão microscópica da turbidez nas lâminas da técnica sul- coreana.	86

Figura 13 (Ovo intacto de <i>A. lumbricoides</i> numa lâmina da contagem su	ıl-
	coreana	•••
Figura 14	Ovo intacto de A. lumbricoides numa lâmina da contagem inglesa	
Quadro 1 -	Resumo das etapas de quantificação de OPG em amostras antigas. Técnicas: Americana, Inglesa e Sul-coreana	46
Quadro 2 -	Especificações das amostras arqueológicas analisadas no presente estudo	55
Quadro 3 -	Pós-teste de <i>Tukey</i> : diferença das médias obtidas nas contagens de ovos por leitura microscópica	78
Quadro 4 -	Quantificação-controle. Método Stoll (1923) modificado por DeCarli (2007). Registro da quantificação de OPG realizada no	90
0 1 5	pool de fezes recentes	80
Quadro 5 -	Resultado numérico resumido das quantificações de OPG das metodologias testadas	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Datação direta por espectrometria de massa de acelerador (AMS) em ossos humanos no cemitério de Caboclo. Fonte: AMARAL (2007)	50
Tabela 2 -	Teste ANOVA: Comparação aos pares das metodologias reproduzidas	76
Tabela 3-	Pós-teste de <i>Dunnet</i> : Significância estatística dos métodos de contagem em relação ao método controle.	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC Antes de Cristo

AD Água destilada

aDNA Ácido desoxirribonucleico antigo

AP Antes do Presente

cm Centímetro

DNA Ácido desoxirribonucleico

EPI Equipamento de Proteção Individual

EUA Estados Unidos da América

g Grama

h Hora

HCL Ácido clorídrico

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IPHAN Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional

km Quilômetro

L Litro

m Metro

MIF Mercúrio, iodo e formol

ml Mililitro

Na3PO4 Fosfato Trissódico

OPAS Organização Pan-Americana de Saúde

OPG Ovos por grama

OPL Ovos por lâmina

PARNA Parque Arqueológico Nacional

PCR Reação em cadeia da polimerase

pH Potencial hidrogeniônico

s Segundos

μl Microlitro

μm Micrômetro

WHO World Health Organization

x vezes

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO - PALEOPARASITOLOGIA: BREVE LINHA DO TEMPO	13
2	PALEOPARASITOLOGIA E O HOMEM: CONTRIBUIÇÕES	1.
_	RELEVANTES	17
3	NOVAS PERSPECTIVAS NA PALEOPARASITOLOGIA:	1
5	PATOECOLOGIA E PALEOEPIDEMIOLOGIA	20
3.1	PATOECOLOGIA	20
3.2	PALEOEPIDEMIOLOGIA	22
3.3	PATOECOLOGIA E PALEOEPIDEMIOLOGIA: CONVERGÊNCIAS	26
4	ACHADOS PALEOPARASITOLÓGICOS NA AMÉRICA DO SUL,	
	COM ENFOQUE NO BRASIL	27
5	PARASITOSES: DO PASSADO AO PRESENTE	31
6	ASPECTOS TAFONÔMICOS	35
		5.
7	TÉCNICAS LABORATORIAIS PARA DIAGNÓSTICO DE	
	PARASITOS E ADAPTAÇÕES PARA APLICAÇÃO EM	
	MATERIAL ARQUEOLÓGICO: SÍNTESE	39
7.1	TÉCNICAS APLICADAS NA ABORDAGEM QUALITATIVA	
	PALEOPARASITOLÓGICA – PATOECOLOGIA	41
7.2	TÉCNICAS APLICADAS NA ABORDAGEM QUANTITATIVA –	
	PALEOEPIDEMIOLOGIA	44
8	ÁREA DE ORIGEM DAS AMOSTRAS DO ESTUDO	47
9	JUSTIFICATIVA	5]
10	OBJETIVOS	53
11	MATERIAL E MÉTODOS	54
11.1	TIPO DE ESTUDO	54
11.2	MATERIAL	55
11.3	MÉTODOS	56
11.3.1	Diagnóstico paleoparasitológico das amostras do Sítio Pedra do	
	Tubarão.	56
11.3.2	Contagem de ovos por grama em pool de fezes recentes (quantificação-	
	controle)	57
11.3.3	Confecção do coprólito experimental	58
11.3.4	Quantificação de OPG no coprólito experimental	59
11.3.5	Metodologia aplicada nos Estados Unidos	60
11.3.6	Metodologia aplicada na Coreia do Sul	61
11.3.7	Metodologia aplicada no Reino Unido	62
11.3.8	Comparação das técnicas: eficiência de cada método aplicado, levando	_
	em consideração a quantificação-controle	62
11.3.9	Modelo Estatístico.	64
11.3.10	Aspectos Éticos	64

12	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
12.1	ANÁLISE PATOECOLÓGICA	65
12.2	SUBSÍDIOS PARA A PALEOEPIDEMIOLOGIA: COMPARANDO	
	MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE OPG	76
12.3	SIMILITUDES E ESPECIFICIDADES DAS METODOLOGIAS	
	APLICADAS	79
12.4	METODOLOGIA APLICADA NOS ESTADOS UNIDOS	81
12.5	METODOLOGIA APLICADA NA COREIA DO SUL	84
12.6	METODOLOGIA APLICADA NO REINO UNIDO	88
13	CONCLUSÃO.	91
	REFERÊNCIAS	93

1 INTRODUÇÃO - PALEOPARASITOLOGIA: BREVE LINHA DO TEMPO

Advindo do grego, o termo interdisciplinar "Paleoparasitologia" se refere ao estudo dos parasitos encontrados em material antigo, remanescentes do homem e de outros animais, recuperados de sítios arqueológicos, paleontológicos ou outras fontes, em que tenham se mantido preservados (ÁVILA-PIRES, 1988; GONÇALVES, ARAÚJO e FERREIRA, 2002, 2003; FERREIRA, 2011).

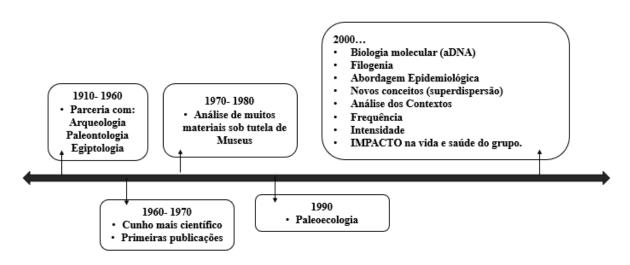
O interesse nos estudos para melhor conhecer a relação parasito/hospedeiro/ambiente que se estabelece desde as primeiras civilizações, levou a indagações peculiares que culminaram na criação do campo da Paleoparasitologia (FAULKNER, REINHARD, 2014). Ramo da paleopatologia, tem como propósito, a busca pela origem, conhecimento, dispersão e evolução das doenças. Sua notória interdisciplinaridade vem da relação direta e/ou indireta com outras ciências, e estas, ajudam na interpretação dos dados paleoparasitológicos, tais como biologia, medicina, história, arqueologia, geografia, antropologia, genética, entre outras (FERREIRA, 2011; DITTMAR; REINHARD; ARAÚJO, 2012; IÑIGUEZ, 2014).

Desde seu surgimento em 1910, com estudo realizado por Sir. Marc Armand Ruffer, a Paleoparasitologia investe na busca de formas ou vestígios parasitários, na investigação de como se deram os distintos processos de saúde/doença ao longo do tempo, e têm evidenciado a presença e manutenção de diversas infecções, antes mesmo do surgimento dos hominídeos, ratificando que os parasitos acompanham os vertebrados desde o início do processo evolutivo, (RUFFER, 1921; KILLICK-KENDRICK *et al.*, 1980; ARAÚJO e FERREIRA, 1998; GONÇALVES, ARAÚJO, FERREIRA, 2003; NOGUEIRA, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2011; FERREIRA, 2011).

Numa linha cronológica, ilustrada na figura 1, nas décadas de 1950 e 1960 surge o pioneirismo da Paleoparasitologia com o desenvolvimento de metodologias para identificação e diagnóstico de parasitos em materiais antigos que culminaram em 1969 a com publicação de artigos na Revista Science, gerando o interesse dos arqueólogos e parasitologistas. Os experimentos continuaram a desenvolver-se e aprimorar-se pelas décadas de 70 e 80, e muitas amostras que se encontravam sob a tutela de museus foram analisadas visando determinar a existência ou não de parasitos, sua identificação e tipificação (REINHARD e BRYANT, 2008; DITTMAR, REINHARD, ARAÚJO, 2012).

Desde 1970, e ganhando ênfase nas últimas décadas, a apreciação e estudos de materiais remanescentes do passado, além da detecção de parasitos, permitiu revelar importantes informações sobre padrões de dieta, hábitos, clima predominante na época e adaptações paleoecológicas (FERREIRA, 1973; CHAVES; REINHARD, 2006; SOUZA *et al.*, 2018).

Figura 1- Breve linha do tempo: O desenvolver da Paleoparasitologia década a década.



Fonte: COSTA, 2020

Com base nos achados, durante décadas, os paleoparasitologistas vêm identificando quais espécies de parasitos coevoluíram com o hospedeiro humano e quais foram adquiridas durante os processos migratórios e eventos de modificação e adaptação cultural, como por exemplo, a mudança do modo de vida caçador-coletor para o agricultor, o aumento da densidade populacional, a domesticação de animais e o cultivo de plantas (MACPHERSON, 2005).

Dentre os principais materiais de estudo da Paleoparasitologia estão os coprólitos (do grego: *kopros* = fezes e *lithos* = pedra) que são fezes preservadas naturalmente por dessecação ou mineralização e os sedimentos provenientes de forames sacrais de esqueletos preservados, controles de enterramentos ou latrinas. Além dos coprólitos, é possível encontrar vestígios de parasitos em tecidos mumificados, ossos, medula óssea, tecido muscular, órgãos, sedimento de latrina e urnas funerárias (FERREIRA *et al.*, 2011; NOVO, 2015; NOVO e FERREIRA, 2016; LE BAILLY *et al.*, 2019).

Há décadas, evidências parasitárias vêm sendo recuperadas de múmias, coprólitos e esqueletos e a parasitologia justaposta à arqueologia vêm valorizando as prerrogativas advindas

da abordagem quantitativa (CAMACHO *et al.*, 2018). Nesta fase exploratória, segundo destacam Reinhard e Araújo (2012), as descobertas parasitológicas foram por si só notáveis, devido a inovação e o entusiasmo de recuperar parasitos de rudimentos arqueológicos.

Sequencialmente a essa fase exploratória, veio naturalmente um período de comparação dos achados positivos nos indivíduos e populações agora com foco na distribuição geográfica. Os autores corroboram que novas abordagens foram emergindo, e que a partir desse século o foco na quantificação, nas infecções e não somente na presença do parasito, foi se intensificando à medida que os objetivos das pesquisas em Paleoparasitologia mudaram ou ampliaram. Novos aspectos foram surgindo e os métodos foram e continuam sendo aprimorados, desta forma, os dados parasitológicos em remanescentes do passado vêm ganhando relevância epidemiológica (REINHARD e BRYANT, 2008; DITTMAR; REINHARD; ARAÚJO, 2012; REINHARD, 2017).

No início dos anos 2000, uma vez assentados os problemas metodológicos sobre confiabilidade das amostras e consolidação das técnicas usuais na parasitologia atual com adaptações para uso em material antigo, ocorreram grandes avanços qualitativos na Paleoparasitologia com a divulgação de resultados positivos, onde, como já citado, o foco até aquele ano, jazia no conhecimento da origem dos parasitos de humanos e também de animais (REINHARD; HEVLY; ANDERSON, 1987; ÁVILA-PIRES, 1988; BELTRAME *et al.*, 2018).

Infecções parasitárias foram e continuam sendo identificadas em vários países e em materiais de diversas origens ao longo das décadas e uma efígie começou assim a surgir da distribuição de parasitos (ARAÚJO; FERREIRA, 1997; ARAÚJO *et al.*, 1998; CASCARDO, 2017; SOUZA, 2017). Resumidamente e cronologicamente, a partir de 2000, a Paleoparasitologia iniciou uma espécie de metamorfose, de um estágio descritivo a um período de contribuições com novos focos advindos dos ramos científicos da patoecologia e da paleoepidemiologia, incorporando mudanças nos objetivos e perspectivas, numa visão para além da identificação de parasitos em material antigo, mas voltada para interpretação do achado parasitológico de acordo com o ambiente e a cultura do grupo estudado além do impacto da infecção identificada na saúde das populações antigas (ARAÚJO *et al.*, 1998; FAULKNER; REINHARD, 2014; CAMACHO *et al.*, 2018).

Para Rabello *et al.* (2008), as técnicas coproparasitológicas em material antigo se dividem em dois grupos, que unidos se completam. O primeiro abrange técnicas qualitativas que possibilitam determinar a presença ou ausência de formas parasitárias baseando-se na observação em microscópio de luz e identificação taxonômica por meio de análise morfológica

e morfométrica. O segundo grupo reúne técnicas quantitativas que possibilitam estimar o número de ovos por grama (OPG) de fezes. As análises qualitativas são principalmente baseadas na utilização da técnica de reidratação com solução aquosa de fosfato trisódico (Na₃PO₄) a 0,5%, seguida de técnicas de sedimentação espontânea (FERREIRA *et al*, 2011). Estas técnicas configuram a base dos estudos paleoparasitológicos e são amplamente aplicadas por grupos de estudo nacionais e internacionais (ARAÚJO *et al.*, 1988; REINHARD *et al.*, 1986a; HAN *et al.*, 2003; LE BAILLY, 2005; SEO et al, 2010; LE BAILLY; BOUCHET, 2013; MITCHELL *et al.*, 2013; YEH *et al.*, 2016; MORROW; REINHARD, 2018).

As análises quantitativas vêm sendo mais recentemente aplicadas e permitem avaliar a epidemiologia da infecção, com base na determinação de OPG, da carga parasitária e da distribuição dos parasitos na população estudada (MORROW; REINHARD, 2018).

Vale ressaltar, que para as análises quantitativas, não há padrão ouro estabelecido. Existem diferentes técnicas aplicadas de acordo com os grupos de pesquisa, a exemplo dos relevantes grupos: norte-americano, inglês e sul-coreano, o que segundo os estudiosos dificulta e por vezes inviabiliza a comparabilidade, a exemplo do que sintetizam Camacho *et al*.

^[...] Nesta conjuntura inicial, os métodos de quantificação de ovos vêm sendo desenvolvidos em laboratórios lançando mão de diferentes metodologias, o que dificulta a comparabilidade dos resultados relativos à dispersão dos parasitas (2018, p.188).

2 PALEOPARASITOLOGIA E O HOMEM: CONTRIBUIÇÕES RELEVANTES

Diversos países têm realizado estudos que auxiliam no conhecimento sobre a dinâmica de vida humana ao longo do tempo: como a cultura e o comportamento humano influenciaram e até modificaram o padrão de infecções parasitárias e de doenças, e vice-versa, e ainda, quais parasitos e quais grupos humanos têm sido expostos ao longo de sua evolução biológica e cultural (REINHARD *et al.*, 2013; SEARCEY *et al.*, 2013; SIANTO *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2018). A respeito disso afirmaram Reinhard e Araújo (2012, p.751).

Parasitos fornecem informações sobre os hábitos atuais e ecologia de seus hospedeiros individuais. Os mesmos parasitos prometem nos dizer algo sobre conexões geográficas e hospedeiros de muito tempo atrás. Eles são simultaneamente o produto de um ambiente imediato e uma longa ancestralidade refletindo associações de milhões de anos. Eventualmente, pode haver peças suficientes para formar uma linguagem significativa que poderia ser chamada de parascript - a linguagem dos parasitos que fala de si e seus hospedeiros hoje e ontem.

No tangente ao comportamento humano, um ponto relevante decorrente da Paleoparasitologia são as deduções de seus achados em relação às ocorrências de migrações pré-históricas e o povoamento das regiões da terra. O interesse de pesquisadores sobre a relação entre parasitismo e migrações pré-históricas humanas já existia no fim do século XIX, e lançando mão de comparação de dados atuais para inferências sobre movimentos migratórios pré-históricos, a Paleoparasitologia, trouxe contribuições importantes aos estudos epidemiológicos. A respeito disso, os estudos pioneiros de Olímpio da Fonseca sobre parasitismo em populações indígenas contemporâneas isoladas trouxeram aportes para as teorias de povoamento das Américas, ao introduzir um novo marcador biológico às argumentações de ordem cultural sobre origem e vias migratórias de populações pré-históricas (FONSECA, 1972 apud ARAÚJO e FERREIRA, 1997, p.63). Sobre esse aspecto os autores corroboram

A análise da distribuição de infecções parasitárias no passadopossibilita especulações quanto às migrações humanas emdiferentes regiões ao longo do tempo, assim como contatosinterpopulacionais, uma vez que, sob a ótica evolucionista, uma determinada espécie biológica não surge em mais de um ponto geográfico (GONÇALVES; ARAÚJO; FERREIRA, 2002 p.193).

Para além da migração de pessoas, achados paleoparasitológicos têm suscitado informações importantes sobre o comportamento humano no passado, correlacionando por exemplo, os padrões de migração às condições de higiene e consumo de alimentos. Uma ilustração relevante foi a recuperação de formas remanescentes de parasitos, como *Taenia* sp.

e *Ascaris* sp. em estudo realizado no Reino Unido por Yeh *et al.* (2016), em bastões de higiene pessoal encontrados na latrina da estação *Xuanquanzhi* durante a dinastia *Han*, na histórica "Rota da Seda", na antiga China. As descobertas desse experimento fomentaram hipóteses anteriores, sugerindo que as viagens ao longo da Rota da Seda estão entre os fatores responsáveis pela propagação de doenças infecciosas entre Ásia Oriental, Oriente Médio e Europa há aproximadamente 2.000 anos.

Assim, tomando como esteio o estudo supracitado, a Paleoparasitologia vem se tornando um caminho para estudos sobre a origem de hospedeiros, suas rotas de migração no passado e distribuição atual, procurando explicar e/ou contribuir para elucidar o comportamento e o impacto das infecções parasitárias sobre a saúde de populações pré-históricas, além de vir, ao longo das do último século, fornecendo dados para outras ciências correlatas à respeito da origem da espécie humana (REINHARD *et al.*, 1986a; REINHARD; HEVLY; ANDERSON, 1987; ARAÚJO e FERREIRA, 1998; GONÇALVES, ARAÚJO, FERREIRA, 2002).

No Brasil, as pesquisas tiveram início com indagações sobre as doenças parasitárias que acometeram populações pré-históricas do Novo Mundo e quais dessas eram realmente autóctones do continente ou teriam sido introduzidas pelos colonizadores e/ou escravos africanos" (GONÇALVES, ARAÚJO, FERREIRA, 2002; ARAÚJO *et al.*, 2003; 2013).

Resultados positivos em grupos pré-colombianos, encontrados por pesquisadores brasileiros, como os achados de ovos de *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos provocaram a redefinição da origem historicamente conhecida do povoamento e o surgimento de novas hipóteses de rotas da vinda do homem às Américas, baseadas no ciclo biológico desses helmintos (FERREIRA, ARAÚJO, CONFALONIERI, 1979 apud NUNES, 2015; FERREIRA, ARAÚJO, CONFALONIERI, 1980; FERREIRA *et al.*,1987 apud ARAÚJO; FERREIRA, 1997).

Segundo Leles *et al.* (2009; 2010), com o advindo da biologia molecular e a implementação de suas técnicas em material arqueológico, como a recuperação de DNA antigo (aDNA) via aplicação de reação em cadeia da polimerase (PCR), foi possível ter resultados proeminentes, contribuindo assim, com avanço tecnológico da Paleoparasitologia, como por exemplo a identificação de *Trypanosoma cruzi* em corpos mumificados do Brasil, datados de 4.500 – 7.000 anos, revelando que a infecção chagásica já ocorria no Novo Mundo desde a préhistória (LIMA *et al.*, 2008 ; FERREIRA, JANSEN, ARAÚJO, 2011).

De maneira a compreender aprofundadamente as diferenças e as convergências entre as mais recentes perspectivas na Paleoparasitologia, no presene estudo, foi realizada uma revisão bibliográfica na literatura. Nela foi possível constatar que os conceitos de Patoecologia e Paleoepidemiologia ainda são aplicados e abordados de forma separada, porém os autores corroboram com suas relevâncias, destacando sua aplicação em situações e cenários arqueológicos diversos. Assim, no estudo estão devidamente valorizados na busca de novas perspectivas para a Paleoparasitologia: a relevância e consolidação de uma e a modernidade da outra.

3 NOVAS PERSPECTIVAS NA PALEOPARASITOLOGIA: PATOECOLOGIA E PALEOEPIDEMIOLOGIA

3.1 PATOECOLOGIA

Empregada inicialmente para estudos contemporâneos nas observações de padrões ecológicos em manifestações de infecções parasitológicas, a patoecologia teve seu uso adaptado à sítios arqueológicos. Essa adaptação foi possível por se tratar do estudo de fatores ambientais e culturais associados à presença de um determinado parasito e sua dinâmica, assim, mesmo com limitações no tangente a inferências populacionais, ela permite dar suporte às análises epidemiológicas, ao interpretar fatores associados ao surgimento e manutenção de infecções parasitológicas em populações antigas (REINHARD e BRYANT, 2008).

"O termo foi idealizado por Reinhard, em 1974 quando se propôs a estudar a história das doenças infecciosas e sua correlação com mudanças climáticas" (REINHARD, 1974a, 1974 apud CAMACHO, 2018, p.15). A patoecologia fomenta-se no conceito de nidalidade descrito inicialmente por Pavlovsky (1966), no qual estabelece que as infecções, assim como as espécies, possuem habitats (*nidus*) onde há condições que favorecem sua presença, desenvolvimento e manutenção. Portanto, ao conhecer o ciclo biológico e as formas de transmissão de um agente infeccioso é possível determinar os fatores relacionados direta ou indiretamente à manifestação de infecções por parasitos (PAVLOVSKY, 1966; REINHARD; BRYANT, 2008; SLEPCHENKO; REINHARD, 2018).

Na Paleoparasitologia seu conceito tem sido utilizado, entre outros desígnios, para fomentar discussões sobre o significado do diagnóstico parasitológico, tanto em populações humanas quanto de animais, estes pelo seu potencial zoonótico, em sítios arqueológicos e de que forma esse resultado se relaciona com o grupo estudado (REINHARD e ARAÚJO, 2012; SIANTO *et al.*, 2014).

Considerando que a aplicação do conceito de patoecologia tem fomento na presença/ausência de vestígios de parasitos e na identificação e avaliação de fatores ambientais e culturais que poderiam estar relacionados a essa evidência, especificamente no caso dos parasitos de animais, ainda pode ser considerado insipiente o número de estudos publicados, frente ao potencial, isso nos remete uma perda significativa de inferências e informações complementares sobre os grupos humanos remotos, conforme declarou Ferreira que "Uma vez a presença do parasito na fauna local, associada a fatores ambientais e socioculturais, como

alimentação e tipo de habitação, esta pode indicar as vias de transmissão dos parasitos para a populações humanas" (2011, p.335)

Reiterando, fatores bióticos e abióticos em que viviam as populações humanas remotas, tais como: clima, solo, a presença de hospedeiros intermediários e definitivos, de reservatórios, dieta, aglomeração de indivíduos, utilização do espaço habitado, saneamento, destino inapropriado de dejetos, hábitos de higiene e migração, além do fator comportamento, imprescindível numa análise patoecológica, são considerados na reconstrução desse *nidus*, podendo delinear assim, modelos de previsibilidade e de transmissibilidade dessa fauna parasitária (REINHARD; BRYANT, 2008; TEIXEIRA-SANTOS, 2010; FERREIRA, 2011; REINHARD e ARAÚJO, 2012; SLEPCHENKO; REINHARD, 2018).

Sendo assim, a patoecologia se constitui como ferramenta aplicável a qualquer contexto arqueológico, independente do grau de conservação, pois a identificação de formas parasitárias e a observação dos fatores supracitados são suficientes para a realização da interpretação patoecológica. Desse modo, a aplicação da patoecologia se faz essencial em todos os contextos, principalmente em locais onde a preservação da matéria fecal foi comprometida devido à interferência de fatores tafonômicos, pois auxilia no entendimento da dinâmica de infecção no contexto do sítio (FERREIRA, 2011; MORROW *et al.*, 2016).

É importante relatar que um dos pontos, se não o mais relevante, da diferenciação entre o conceito de nidalidade e patoecologia está na introdução do fator comportamental/cultural como uma variável a ser incluída para auxiliar na explicação da manifestação da infecção em uma população. Considerando que, os fatores que determinam a presença de um determinado agente infeccioso em um ambiente e as infecções/doenças ocasionadas por este agente, dependem de variáveis relacionadas ao ciclo biológico e, portanto, são relativamente constantes, é possível, desse modo, realizar comparações entre populações antigas e atuais. Assim, a avaliação de variáveis relacionadas às infecções no passado pode contribuir para estudos atuais relacionados à emergência e reemergência de infecções/doenças (REINHARD E BRYANT, 2008; ROBERTS; JANOVY; NADLER, 2013; MOLNÁR et al., 2017).

Dando continuidade, o estudo da patoecologia das infecções no passado é decorrente da necessidade de explicar a presença do parasito em determinado contexto arqueológico e sua provável influência na vida das populações e vice-versa. O relato da positividade de amostras para vestígios de parasitos, foi muito importante no desenvolver da Paleoparasitologia ao longo das décadas e certamente possibilitou responder à indagações e lacunas relacionadas à migração, temporalidade da relação parasito/hospedeiro, extinção de agentes infecciosos ao

longo do tempo, entre outras (FERREIRA, 2011; BASTOS, LELES E ARAÚJO, 2011; CAMACHO *et al.*, 2018).

No entanto, ao longo do tempo, questões relacionadas ao impacto do modo de vida de populações antigas na presença e manutenção do agente infeccioso, demandou o aprofundamento da interpretação do achado qualitativo paleoparasitológico e, desse modo, o desenvolvimento e aplicação da patoecologia, especialmente em contextos cuja preservação é comprometida, vindo assim a suprir lacunas no conhecimento (FERREIRA, 2011; BASTOS, LELES E ARAÚJO, 2011; CAMACHO *et al.*, 2018). A exemplo disso, Camacho *et al.* (2018) listaram os estudos publicados entre 1944 a 2016, que tiveram diagnóstico positivo de parasitos intestinais em coprólitos e múmias em todos os continentes, e sugeriram então, que a patoecologia fosse justaposta essencialmente em todos os estudos de cunho populacional em sítios arqueológicos.

3.2 PALEOEPIDEMIOLOGIA

"Como invariavelmente ocorre nos diversos campos da ciência contemporânea, a epidemiologia moderna tem muito a aprender das lições da história da humanidade e da Terra" (BASTOS, LELES E ARAÚJO, 2011, p.473).

Epidemiologicamente, se faz cogente discernir entre os conceitos de infecções parasitárias e doenças parasitárias. Elas são fases de um único processo, contudo, podem apresentar-se como situações distintas. O parasito é uma condição necessária, mas não suficiente para iniciar uma doença parasitária, pois esta resulta da presença de determinado parasito em um determinado hospedeiro, a partir de uma dada população em um específico ambiente e durante um período de coevolução de vida particular de ambos protagonistas (FERREIRA, 1973; REY, 2008).

Levando em consideração que a manifestação de sinais e sintomas conexos à infecção parasitária, bem como sua contribuição efetiva na morbimortalidade deste hospedeiro, decorre de uma tríade de fatores inerentes ao parasito, ao hospedeiro e ao ambiente em que se encontram, são promissores os degraus paleoparasitológicos mais modernos, para o esclarecimento das lacunas existentes em relação as parasitoses do passado e sua relação com o mesmo processo na atualidade (REY, 2008; NOVO, 2015). O mais estimulante é que há muitas possibilidades de estudos nessa nova ciência, e estes, certamente, podem originar novos dados sobre sua antiguidade e etapas evolutivas na relação parasito-hospedeiro, inclusive com aplicações epidemiológicas na contemporaneidade (REINHARD; ARAÚJO, 2012).

Nas novas perspectivas da Paleoparasitologia, complementarmente à patoecologia, é relevante conhecer ou estimar o impacto que as infecções parasitárias provavelmente causaram na vida e na saúde de populações antigas. Essa estimativa torna-se alcançável com a inclusão da paleoepidemiologia (FERREIRA, 2011). Porém, é crucial ressaltar que sua aplicação só faz possível em contextos ideais de preservação, que são mais raramente evidenciados em sítios arqueológicos (REINHARD; BRYANT, 2008). Por esse motivo, é importante realizar estudo paleoepidemiológico quando um sítio arqueológico proporciona condições ideais de preservação e, como se trata de uma oportunidade rara, se faz mister certificar-se de que as técnicas utilizadas são adequadas para estabelecer dados quantitativos acurados.

A paleoepidemiologia tem como ferramenta primordial a aplicação de técnicas que objetivam quantificar os ovos de parasitos observados e estimar a proporção de ovos por grama (OPG) (CAMACHO *et al.*, 2018). Estudando não só qualitativamente a identificação de parasitos, ou seja, a presença ou ausência, os métodos de quantificar valores de achados parasitológicos em múmias, coprólitos e sedimentos vêm paulatinamente ganhando destaque, permitindo a estimativa da intensidade da infecção e seus encadeamentos patológicos (JOVANI, TELLA, 2006).

Para o entendimento da aplicação da paleoepidemiologia, é importante perceber que são de sumo interesse as populações e não os indivíduos. Isso a diferencia dos estudos de caso que apresentam um ou alguns esqueletos, que são comuns na pesquisa paleopatológica, por exemplo (MILNER; BOLDSEN, 2017).

O impacto da infecção na saúde das populações antigas, um dos pilares da paleoepidemiologia, pode ser avaliado por meio de variáveis epidemiológicas, como por exemplo, a estimativa da frequência da infecção, caracterizada pelos resultados positivos em amostra representativa da população, e da intensidade de infecção obtida pela comparação do número de OPG com a quantidade de ovos ovipostos por fêmeas do parasito identificado (CAMACHO *et al.*, 2018; MORROW; REINHARD, 2018; REINHARD; CAMACHO, 2019).

Na atualidade da parasitologia, prevalência é um conceito estatisticamente estabelecido, se referindo ao número de casos de uma infecção ou doença que está presente em uma determinada população em um determinado tempo. Já para a Paleoparasitologia, o conceito de prevalência deve ser cuidadosamente abordado, até porque, em muitos casos a população real é estimada arqueologicamente, ou é fomentada em estratégias de amostragem com base na procedência do material estudado, relatam CAMACHO *et al.* (2018).

A importância metodológica da quantificação e estimativa de OPG pode estar no fato desta abordar três questões pertinentes, segundo esclarecem os autores supracitados)

(...) No nível de indivíduos, bons diagnósticos de qualquer amostra podem ser usados e estes delineiam parasitoses através do tempo e do espaço, fato relevante aos paleopatologistas; em segundo lugar, para entender o nível da Patologia em uma população, os dados de grandes e diversificadas amostras podem ser usadas para avaliar a frequência, dados relevantes para bioarqueólogos; terceiro, definir OPG leva a estimar intensidade de infecção e, finalmente, superdispersão, dados especialmente influentes para ponderar doenças no passado, tanto no nível individual quanto populacional, o que é relevante para a paleopatologia (CAMACHO *et al.* 2018, p.7).

Na sequência, busca-se uma conexão entre a intensidade estimada, a presença de lesões ósseas e dados da literatura que discorram sobre o impacto na saúde, como por exemplo anemias e outras deficiências nutricionais, que são comumente diagnosticadas em populações antigas (CAMACHO *et al.*, 2017; SLEPCHENKO; REINHARD, 2018).

Essa quantificação teve sua aplicação experimental na década de 70, mas, se destacou nos estudos de Martinson *et al.* e Reinhard e Buikstra, ambos em 2003. No primeiro, os valores de OPG foram estimados com o objetivo de identificar e comparar a dinâmica de infecção em sítios arqueológicos diferentes, porém de uma mesma população. No segundo estudo, a quantificação foi aplicada para determinar se a infestação de piolhos e sua distribuição poderiam ser comparáveis à dados provenientes de populações atuais.

Vale ressaltar que visionariamente, ainda antes do ano 2000, foram publicados os primeiros estudos de abordagem quantitativas, e estes remeteram a padrões epidemiológicos intrigantes. Entre eles destacam-se: uma fauna parasita reduzida nos antigos grupos caçadorescoletores em relação às populações agricultoras (REINHARD; HEVLY; ANDERSON, 1987); que o parasitismo entre caçadores-coletores era majoritariamente por espécies zoonóticas, enquanto as populações agrícolas eram mais parasitadas por espécies específicas de humanos; a presença de correlação forte entre parasitismo e anemia, quando comparadas à frequência de parasitos em coprólitos com a de lesão óssea (hiperostose porótica) em esqueletos (REINHARD, 1992), e ainda, que estudos comparativos da patologia de aldeias agrícolas préhistóricas revelaram que o nível de parasitismo relacionava-se à ecologia local, aos padrões de saneamento adotados por aquele grupo, bem como ao estilo de habitação (REINHARD *et al.*, 1986).

A quantificação de OPG já se consolida no cenário mundial de paleoparasito e paleoepidemiologia como uma ferramenta, um avanço metodológico para a área, afirmaram Camacho *et al.* em 2018. Desse modo, segundo os mesmos autores, quando os métodos de

quantificação são aplicados aos coprólitos, analogias de frequência de infecção por helmintos, por exemplo, passado-passado de grupos diversos e passado-presente de uma mesma infecção parasitária são possíveis.

Martinson *et al.* em 2003, já citavam a quantificação como uma "promessa" da área a explorar. Lamentavam também, assim como Santoro, Vinton, Reinhard no mesmo ano, que um grande número de amostras antigas (recuperadas pela arqueologia ou aquelas já sob tutela de museus) analisadas para busca de parasitos entre 1970 e 1992 foram processadas antes que a quantificação com adição de esporos de *Lycopodium* (método americano) fosse um método consolidado.

No tangente à comparação estudos quantitativos, "A quantificação fornece uma base para uma abordagem epidemiológica e também base para estudos comparativos" já citavam Reinhard *et al.* em 1986 (p.224). Porém, esses mesmos autores também destacam que nesta conjuntura inicial, os métodos de quantificação de ovos vêm sendo desenvolvidos em laboratórios lançando mão de diferentes metodologias, o que dificulta, ou mesmo, inviabiliza a comparabilidade dos resultados relativos à dispersão dos parasitos.

Quanto ao *link* da epidemiologia moderna e a paleoepidemiologia, Anderson e May ainda em 1985, afirmavam que se corretamente aplicados, os métodos de quantificação para estimativas de OPG unem-se aos dados provenientes de contextos arqueológicos, e estes são sim, comparáveis aos contextos clínicos modernos. A respeito disso, anos depois Han *et al.* (2003) e Seo *et al.* (2008, 2014) corroboraram, assegurando que dados paleoparasitológicos podem sim, ser empregados para arguir a paleoepidemiologia de infecções por parasitos de maneira análoga aos estudos epidemiológicos contemporâneos.

Mais recentemente, Camacho *et al.* (2018), reafirmam que nos sítios bem preservados, onde é possível adquirir dados quantitativos, pode-se estabelecer um padrão da distribuição dos parasitos nos hospedeiros daquele grupo, por meio da aplicação dos conceitos de "superdispersão", onde a distribuição dos parasitos segue uma premissa na qual a maioria deles está concentrada em uma minoria de hospedeiros, e dos *super spreaders*, que são indivíduos hiperparasitados responsáveis pela disseminação dos parasitos para o restante da população. Esse padrão de distribuição parasitária já consolidado desde os anos 70, é observado em populações de hospedeiros vertebrados e invertebrados e como axioma pode ser ressaltada estatisticamente pela razão matemática entre a variância e a média. (CROFTON, 1971; ANDERSON; MAY, 1985). Portanto, a observação desse mesmo padrão de distribuição em populações antigas, como já registrados nos estudos de Rácz *et al.* (2015) na Bélgica e Morrow

e Reinhard (2018) no México, ratifica a possibilidade de comparar cenários epidemiológicos do passado e do presente

3.3 PATOECOLOGIA E PALEOEPIDEMIOLOGIA: CONVERGÊNCIAS

A patoecologia baseia-se em conceitos ligados à identificação qualitativa de parasitos em material antigo e, podendo sua análise ser empregue em qualquer nível de preservação, esclarece a presença da infecção e sua permanência no grupo populacional estudado, levantando hipóteses sobre o significado da infecção na saúde e vida daquele grupo, e por conseguinte, se constitui numa importante ferramenta na compreensão de como o modo de vida do passado influenciou para o desfecho da ocorrência e manutenção dessa infecção. As inferências patoecológicas, sozinhas não conseguem estabelecer o impacto da infecção na saúde das populações antigas, e assim, com a aplicação justaposta à paleoepidemiologia é possível estimar dados quantitativos que auxiliam nesta interpretação. Ambas linhas se convergem, compondo uma efetiva dupla na abordagem da intensidade da infecção parasitária, que aliadas a dados arqueológicos e ao contexto ambiental e cultural, vêm fortalecendo a nova abordagem da Paleoparasitologia (REINHARD; BRYANT, 2008; CAMACHO *et al.*, 2018; REINHARD e CAMACHO, 2019).

Por fim, a convergência e complementariedade transparecem entre as duas ciências nas citações a seguir: "No domínio da paleoepidemiologia cada achado da Paleoparasitologia precisa ser interpretado de acordo com aspectos inerentes ao ambiente, ao hospedeiro e ao parasito" (ARAÚJO e FERREIRA, 1997, p.65). "[...] Na Paleoparasitologia moderna, as técnicas quanti e qualitativas se complementam, pois embora muitas vezes com objetivos distintos elas se completam na compreensão do objeto do estudo" (ARAÚJO *et al.*,1997 apud BASTOS; LELES; ARAÚJO, 2011, p.473).

Resumidamente, Camacho (2018, p.25) fecha:

Quando aplicáveis, os métodos quantitativos são utilizados para se estabelecer além da frequência, a intensidade de infecção e a distribuição dos parasitos em seus hospedeiros, o que permite correlacionar com dados epidemiológicos contemporâneos e dá aporte à interpretação patoecológica.

4 ACHADOS PALEOPARASITOLÓGICOS NA AMÉRICA DO SUL, COM ENFOQUE NO BRASIL

O princípio do estudo das doenças parasitárias do passado na América do Sul teve início com materiais antigos enviados por arqueólogos a parasitologistas conhecidos. Paulatinamente, reconhecida e provavelmente com influência dos estudos brasileiros, grupos de pesquisas foram se organizando e se consolidando em diversos países da América do Sul, como no Chile, Peru e Argentina (FERREIRA, 2011).

Os resultados paleoparasitológicos ao longo dos anos apontaram que infecções por parasitos intestinais acompanham os homens em tempos pré-históricos e, assim, foram se contrapondo ao modelo de pensamento de que todas essas moléstias teriam vindo para as Américas contemporaneamente aos colonizadores europeus (ARRIAZA, SCHWARTZ, 1995; ORTEGA, BONAVIA, 2003; FUGASSA, GUICHÓN, 2005; CARVALHO, 2006).

Na década de 1950, especificamente em 1954 no Chile, o primeiro achado da Paleoparasitologia foi alcançado na América do Sul nos estudos de Pizzi e Schenone, que identificaram *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura* e *Entamoeba* spp. em coprólitos recuperados do sítio arqueológico Cerro El Plomo em Santiago, em múmia pré-colombiana, datada entre 4.000 a 2.000 anos AP (antes do presente). Segundo afirmam Fouant *et al.* (1982), Araújo e Ferreira (1998) e Fugassa *et al.* (2008), a partir daí vários estudos foram realizados e sendo a maioria dos parasitos encontrados em material arqueológico da América do Sul oriundos da África, obteve-se então, a contribuição de agora dispor de respeitáveis marcadores biológicos para assessorar a consolidar hipóteses sobre outras rotas de migrações pré-históricas.

No território Chileno, ao longo dos anos, destacam-se outros achados paleoparasitológicos. Em 1976, num sítio arqueológico no deserto do Atacama, foram diagnosticados ovos de *Paragonimus* sp. em coprólitos humanos (HALL apud NOVO, 2015). Em 1990, Reinhard e Audderheide diagnosticaram ovos de *Diphyllobothrium pacificum* em amostras humanas datadas de 4.000 AP., em sítios arqueológicos no norte do país. Esse mesmo parasito posteriormente, também foi encontrado em amostras datadas como antes de Cristo (4.110-1.950 A.C.), no sítio arqueológico de Tiliviche, e estava igualmente presente no sítio arqueológico San Miguel de Azapa, aludindo informações importantes sobre a dieta em comum dessa população (REINHARD, AUDDERHEIDE, 1990; LE BAILLY; BOUCHET, 2013).

Ainda sobre as descobertas do Chile, em Arica, em amostras referentes ao período Inca, foram encontrados ovos de *T. trichiura e Hymenolepis nana* (SANTORO, VINTON,

REINHARD, 2003). Posteriormente, aplicando técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em amostras oriundas de múmias chilenas, Costa *et al.* (2009) identificaram lesões ósseas desfigurantes, características da leishmaniose mucosa nos crânios de mulheres encontradas no Deserto do Atacama. Em estudo mais recente, Souza *et al.* (2018) em novas investigações paleoparasitológicas do período pré-inca ao hispânico, identificaram vários parasitos em amostras de diferentes datações (*E. vermicularis, Trichostrongylus* sp., *Trichuris* sp. *e Eimeria macusaniensis*), comprovando assim uma mudança no padrão de infecções parasitárias ao longo do tempo, relacionando essa mudança com o padrão de comportamento humano, como alimentação e hábitos, de cada época.

Os achados da Argentina, são deveras relevantes para a Paleoparasitologia. Na década de 80, ovos de *E. vermicularis* foram encontrados em coprólitos humanos do período précolombiano no Sítio Pie de Palo (ZIMMERMAN, MORILLA, 1983); em 2006 Fugassa, Araújo, Gichón, identificaram ovos de *T. trichiura* e *A. lumbricoides* em coprólitos encontrados no sítio arqueológico Nombre de Jesús, na Patagônia. Nesse mesmo estudo, ovos de *Ascaris sp.* foram encontrados em amostras do sítio arqueológico Orejas de Burro, Santa Cruz, datadas de 3.720-3.978 AP. e ovos de *T. trichiura* em amostras do sítio Parador Nativo, datadas de 1.513 ± 48 AP. Em 2008, Araújo *et al.* diagnosticaram ovos de ancilostomídeos e *Trichostrongylus* spp. encontrados no sítio arqueológico de Valle Encantado, Neuquén, em coprólitos humanos datados de 1.000-500 AP, e anos depois Beltrame *et al.* (2014), em coprólitos de roedores de um sítio inédito em análises da Patagônia, foram identificados *E. vermicularis*, corroborando com os autores que afirmam o alto poder relacional de zoonoses com o homem pré- histórico.

No Brasil, segundo Gonçalves (2002), até meados dos anos 1970 havia descrédito de que as doenças parasitárias eram relevantes na pré-história do Novo Mundo. Assim, as primeiras pesquisas tinham como objetivo primordial provar o contrário. Uma das perguntas a serem respondidas era se as doenças parasitárias teriam chegado às américas com colonizadores, com escravos ou já existiriam aqui antes mesmo deles chegarem (COCKBURN, 1964).

O marco inicial em nosso país dessa nova ciência foi abonado pelos estudos do Dr. Luís Fernando Ferreira, pesquisador da renomada Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), desenvolvidos no Brasil em 1978, no primeiro laboratório de Paleoparasitologia da América do Sul, com o adendo de ser o precursor do termo "Paleoparasitologia". A adesão do também renomado, Dr. Adauto Araújo a essas novas pesquisas consolidou a nova ciência no País. Esses estudos culminaram com a apresentação no

Congresso Brasileiro de Parasitologia, em 1979, dos primeiros achados com repercussão internacional: ovos de *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos datados de épocas précolombianas (FERREIRA, ARAÚJO, 1996; FERREIRA, 2011).

Após o pontapé em 1978, segue-se então no Brasil, três importantes autores e seus relatos de parasitos em coprólitos advindos do estado de Minas Gerais, Ferreira, Araújo e Confalonieri, sequencialmente em estudos nos anos 1979, 1980 e 1981.

Os estudos de Paleoparasitologia do Brasil, foram imprescindíveis, inclusive, para a comprovação de que a histórica ideia de que as migrações humanas para as Américas teriam ocorrido apenas pelo Estreito de Bering, não era única. O achado de ovos de ancilostomídeos em múmias datadas entre 7.000 e 9.000 anos no Brasil e no Peru, comprovou a existência de rotas marítimas alternativas como possibilidade de migrações humanas na América préhistórica. Inferência fomentada no ciclo biológico, pois uma vez que o ancilostomídeo é um geohelminto que se transmite de hospedeiro a hospedeiro e, biologicamente tem a necessidade de passar por maturação com estágios larvares no solo sob condições específicas de temperatura (entre 25°C e 30°C) e umidade e assim, as temperaturas frias da era glacial teriam destruído os ovos do parasito, aludindo rotas marítimas alternativas, questionando assim a exclusividade da passagem a pé do homem pelo Estreito de Bering como porta de entrada das Américas (FERREIRA, ARAÚJO, 1996; ARAÚJO e FERREIRA, 1998; GONÇALVES; ARAÚJO; FERREIRA, 2003; ARAÚJO et al., 2008). "Essas descobertas contradiziam a sabedoria convencional predominante de que a ancilostomíase era uma introdução histórica do novo Mundo" (REINHARD e ARAÚJO, 2012, p.753).

Achados paleoparasitológicos foram descobertos em diversos estados brasileiros, entre eles indubitavelmente, no cenário nacional, os sítios arqueológicos dos estados do Piauí, Pernambuco e Minas Gerais já proveram contribuições ímpares aos estudos das parasitoses do "homem americano". O parque Nacional Serra da Capivara, no estado nordestino do Piauí, possui os mais antigos registros de presença humana das Américas, com datações que superam 50.000 anos relata Sianto (2009, p.17). Dos Sítios localizados neste Parque, no município de São Raimundo Nonato-PI, destacam-se: os Sítios arqueológicos de Boqueirão da Pedra Furada, Sítio do Meio e Boqueirão Soberbo. Nos dois primeiros, em coprólitos humanos, foram identificados ovos de ancilostomídeos, sendo a presença mais antiga deste parasito em populações pré-colombianas com datação de 7.150 a 7.310 anos. Nesses sítios anteriormente citados, também foram achados ovos de *T. trichiura* com datações entre 7.000 e 9.000 anos, respectivamente (GONÇALVES, ARAÚJO, FERREIRA, 2003).

Sianto em 2009 realizou um amplo estudo com amostras de coprólitos de vários sítios com origem humana e animal do Piauí, identificando diversos parasitos em ambas. Dessa forma, foram identificados em amostras de origem humana: Ancylostomidae, Ascaridae, Oxyuridae, Trematoda, *Trichuris* sp., *Parapharyngodon* sp., *H. nana, Eimeria* sp. entre outros ainda não identificados. No mesmo estudo, em amostras de origem animal oriundas no PARNA Serra da Capivara, foram identificados também parasitos capazes de causar zoonoses em humanos como *Spirometra* sp., *Toxocara* sp., *Capillaria* sp. e Acanthocephala.

No estado do Pernambuco, ovos de *T. trichiura* com 2.000 AP. foram encontrados por Ferreira, Araújo e Confalonieri (1989) em amostras do sítio arqueológico da Furna do Estrago. Ovos desse mesmo parasito, *A. lumbricoides* e *H. nana* também foram identificados no estado do Mato Grosso por Gonçalves, Araújo e Ferreira (2003) com datação de 4.000 - 2.000 AP.

Contribuições importantes também são provenientes dos sítios arqueológicos de Minas Gerais, tais como, ovos de *Trichostrongylidae* e *T. trichiura* encontrados em corpo mumificado do período colonial brasileiro no município de Itacambira em 1983 por Ferreira, Araújo, Confalonieri, ovos de *Echinostoma* spp. contidos em amostras de coprólitos extraídas de uma múmia (600-1.200 AP) encontrada no sítio da Lapa do Boquete, no município de Januária (SIANTO *et al.*, 2005), e anos mais tarde, Novo (2015) com a aplicação de técnicas de biologia molecular em tecidos moles e ósseos da mesma múmia de Itacambira, diagnosticaram fragmentos de DNA *de Leishmania tarentolae*.

No país, relativamente, poucas instituições de ensino e pesquisa estudam essa nova ciência. Uma vez que as condições necessárias para a preservação dos ovos de parasitos mostraram grande variação de região para região, as experiências de análises em amostras de vários sítios arqueológicos se fazem cruciais. As parcerias com Instituições internacionais contribuíram e contribuem para incluir o Brasil como centro importante de estudos na área, e projetos de pesquisa iniciaram e continuam produzindo alianças do Brasil com vários países.

5 PARASITOSES: DO PASSADO AO PRESENTE

Durante a busca por novas áreas para utilização humana ou animal, parasitos foram perdidos, adquiridos ou se adaptaram à novos hospedeiros, bem como às características do ambiente que passaram a ocupar (ARAÚJO, RANGEL, FERREIRA, 1993; ARAÚJO *et al.*, 2008; REY, 2013).

A relação estreita entre parasitoses do passado e do presente pode ter relevante peso epidemiológico. Os hábitos alimentares que persistem ao longo do tempo, por exemplo, ilustram essa relação. Em 1983 e 1984, a infecção pela chamada Tênia do Pacífico, *Adenocephalus pacificus* (syn. *Diphyllobothrium pacificum*) um cestoide parasito de mamíferos marinhos que tem como hospedeiros intermediários peixes e crustáceos, foi diagnosticada em populações sul-americanas pré-históricas de mais de 4.000 anos na costa do Pacífico (PATRUCCO; TELLO; BONAVIA, 1983; ARAÚJO *et al.*, 2008).

Não obstante, o hábito alimentar de consumir peixes "crus", permanece em nossa população em pratos mundialmente populares, como *ceviche, sushi* e *sashimi*, e devido a globalização da culinária, tanto no oriente quanto no ocidente, consequentemente, essa parasitose permanece na atualidade, ora com baixas prevalências, ora com alerta de saúde em alguns países, em maioria asiáticos, ressurgindo em lugares onde a doença estava em declínio ou mesmo havia desaparecido, lançando assim novos desafios para os serviços de saúde pública daqueles países, também na esfera dos países desenvolvidos (CHAI *et al.*, 2005; HERNÁNDEZ-ORTS *et al.*, 2015; KUTCHA *et al.*, 20 15).

A análise de materiais antigos de animais e a consequente identificação de parasitos em seus coprólitos, certamente fornecem informações importantes sobre a saúde humana e podem auxiliar a esclarecer a relação parasito/hospedeiro/ambiente estabelecida em populações atuais, visto que muitos dos parasitos de animais possuem propriedade zoonótica, o que é especialmente importante para a fauna que compunha a dieta de grupos humanos pré-históricos (SIANTO *et al.*, 2009;2014; SIANTO, 2009; LELES *et al.* 2014; CASCARDO, 2017).

Ademais, como citado por Sianto *et al.* (2009), estudos na Europa evidenciaram a presença de parasitemias advindas de animais nos períodos neolítico e medieval. De forma particular, historicamente, o "homem americano" fora exposto a um número crescente de espécies de parasitos zoonóticos ao longo da nossa história, isso se deve a diversos fatores, como a estreita associação entre humanos e animais domésticos e a invasão de paisagens antes reservadas exclusivamente à vida selvagem (MACPHERSON, 2005; ARAÚJO *et al.*, 2013).

Além do contato, o consumo de carne crua ou mal cozida, de órgãos, leite e sangue não processados fora apontado em inúmeros estudos, e esses alimentos citados como potenciais veículos para a transmissão de zoonoses, resumem Barnes *et al.* (2017) em revisão realizada com foco em grupos nômades, sendo estes considerados um elo com o passado, pois cultivam diversos hábitos de vida semelhantes ao homem primitivo.

Muller em 2002 já lançava mão do termo "deselmintizados" para a maioria dos países desenvolvidos. Essa expressão é alusiva ao fato de que a baixíssima prevalência das parasitoses e o consequente baixo impacto médico de doenças parasitárias nesses países, causadas por helmintos por exemplo, já poderiam ser considerados insignificantes em comparação à outras doenças. Em contrapartida, o mesmo autor corrobora que helmintoses, como a filariose, esquistossomose, infecções por nematóides gastrointestinais, vermes pulmonares e muitos outros, ainda se perpetuam como sérios problemas de saúde e socioeconômicos nos países tropicais.

De fato, ainda constituindo um dos graves problemas de saúde pública, as parasitoses humanas, quando em alta parasitemia, contribuem para elevadas taxas de morbimortalidade de pessoas em todo o mundo, sobretudo nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (COLLEY, 2000; ROCHA *et al.*, 2000; WHO, 2012; 2014). Tais taxas associam-se atualmente a baixas condições socioeconômicas, ausência de hábitos de higiene, consumo de água contaminada, não suprimento de água encanada, precárias condições de moradia, bem como de saneamento básico (REY, 2002; 2008; COURA, 2005; OPAS, 2009; SAMPAIO e BARROS, 2017). Elementos estes deveras presentes em nossa conjuntura atual.

Embora tenha havido reconhecido declínio ao longo dos anos na mortalidade por parasitoses no Brasil, como exemplificado no estudo de Sampaio e Barros (2017) e como relatado na revisão de Bacelar et al. (2018), sendo esse declínio relacionado à diversos fatores, como: a melhoria dos indicadores socioeconômicos; o aumento da renda familiar; a elevação da escolaridade materna; melhores condições de moradia e maior acesso aos serviços de saúde, os estudos mostram que as enteroparasitoses apresentam variação de prevalência inter e intrarregionais, influenciada pelos elementos sanitários supracitados, acrescidos pelas condições educacionais, econômicas, sociais, nível de aglomeração da população, condições de uso e contaminação do solo, da água e alimentos, faixa etária dos hospedeiros e ainda a capacidade de evolução das larvas, ovos de helmintos e de cistos de protozoários em cada um desses ambientes (FURTADO, MELO, 2011).

A trajetória histórica desenhada na revisão de Barata (2000) nos mostra que a transição epidemiológica não se constitui num processo finalizado ou deveras simplório de entendimento, essa autora resumidamente relata:

[...] Ao invés de existir um processo linear, no qual as chamadas doenças de pobreza são substituídas pelos males da modernidade, o que se observa é um quadro complexo de alterações, mudanças, adaptações e emergências típicas dos fenômenos vivos. A relação entre as populações de homens, vetores e agentes etiológicos é bastante complexa e não parece estar no horizonte, para os próximos anos, a miragem de uma vida livre de infeções (p.343).

As infecções parasitárias são relacionadas à causa morte global de aproximadamente 200 mil pessoas por ano, principalmente quando estas não são tratadas de forma adequada (FERREIRA; FERREIRA; MONTEIRO, 2000; BRASIL, 2010; BAHMANI *et al.*, 2014). Quanto aos potenciais danos à saúde e vida de uma população, os autores e instituições corroboram que as doenças parasitárias importam pela mortalidade resultante e pela frequência com que produzem déficit orgânico, sendo um dos principais fatores debilitantes de uma população, interferindo em seu cotidiano, podendo diminuir a capacidade para o trabalho dos adultos parasitados, associando-se frequentemente a quadros de diarreias crônicas, má absorção dos nutrientes, desnutrição, anemia, obstrução intestinal, comprometendo assim, o desenvolvimento físico e intelectual, em menor ou maior escala, particularmente das faixas etárias mais jovens da população (WHO, 2008; SILVA e SILVA, 2010).

Mesmo com o estabelecimento e preconização de programas nacionais para tratamento dessas enfermidades no Brasil, como a distribuição gratuita via atenção básica de saúde de drogas anti-helmínticas, facilidade nos métodos de diagnósticos e estratégias preventivas, todos implementados pelo Sistema Único de Saúde brasileiro, as taxas de prevalência das infecções intestinais parasitárias continuam medianas e elevadas, sobretudo na região Nordeste, a exemplo dos estados do Piauí, Pernambuco e Ceará (ALVES *et al.*, 2003; BEZERRA *et al.*, 2003; FURTADO, MELO, 2011; SAUCHA, SILVA, AMORIM, 2015; SAMPAIO e BARROS, 2017).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, mais de um bilhão de pessoas estão infectadas com uma ou mais doenças negligenciadas, o que representa um sexto da população mundial (WHO, 2014). Como exemplos de doenças negligenciadas, podemos citar: dengue, doença de Chagas, esquistossomose, hanseníase, leishmaniose, malária, tuberculose, entre outras. Todas elas infecciosas e/ou parasitárias. Porém, levando em consideração que as doenças negligenciadas não só prevalecem em condições de pobreza, mas também contribuem

para a manutenção do quadro de desigualdade, conclui-se que elas também representam forte entrave ao desenvolvimento dos países (BRASIL, 2010).

6 ASPECTOS TAFONÔMICOS

Definida como o conjunto de transformações e processos que atuam na transição biosfera/litosfera de todos os restos orgânicos (animais e plantas) pelo paleontólogo russo EFREMOV (1940) apud CAMACHO (2018), tafonomia, é um termo advindo da junção das palavras gregas *taphos* e *nomos* que significam "enterro" e "leis", e assim se constitui num ramo da paleontologia que estuda detalhadamente os processos que acontecem do findar da vida (matéria) ao seu encontro com restos orgânicos, independente de quando isso ocorra. Pragmaticamente, tafonomia "é a passagem do estado "vivo" para o "não vivo"" (LYMAN, 2010, p 1).

Indubitavelmente, embora com algumas especificações conceituais, ela tem aplicação multidisciplinar, sendo inquestionavelmente relevante na investigação sobre o passado humano (WYMAN, 1968).

O uso do termo tafonomia traz consigo algumas congruências e/ou discordâncias, de acordo com a ciência ou ramo que o aplica em suas inferências. Para os paleobiólogos a pesquisa tafonômica envolve o estudo dos processos de preservação e como eles afetam as informações impressas no fóssil (BEHRENSMEYER; KIDWELL, 1985); para os arqueólogos envolve a passagem da biosfera para a litosfera, como também modificações sofridas pela matéria após a deposição no ambiente e elementos adicionais, como marcas predatórias, que ajudam a identificar o predador, por exemplo; e a paleoecologia lança mão da tafonomia em busca de respostas que aprofundem o conhecimento de possíveis comportamentos protoculturais dos primeiros hominídeos (BRAIN, 1967).

Nesse estudo, dá-se peso maior à aplicação da tafonomia na visão mais ampla da paleobiologia, corroborando com que resumem Rogers, Eberth, Fiorillo (2007, p.6), "as discussões mais recentes dos paleobiólogos refletem a definição evoluída da tafonomia". Lyman (2010) acrescenta ainda a essa visão, que ela permite a identificação das modificações encontradas durante a recuperação do resto orgânico, isso mesmo após séculos, e assim, podese elaborar respostas à questões que dizem respeito ao agente modificador, e quiçá inferir sobre a reconstrução desses momentos, correlacionando as situações de vida e de morte do organismo estudado.

De forma complementar, na Paleoparasitologia, aplica-se a tafonomia na tentativa de elucidar o porquê de algumas estruturas parasitárias mantêm-se ou não preservadas e em que

nível de preservação, sendo este último associado ao ambiente (CAMACHO *et al.*, 2013; RÁCZ *et al.*, 2015).

Nos estudos tafonômicos, dentro das diversas fases de decomposição sofridas por um corpo ou matéria orgânica, de forma geral ou específica, são considerados fatores que influenciam essa decomposição, sejam eles macro e microambientais (SORG; HAGLUND, 2002). Os fatores macroambientais abrangem a atmosfera (clima, temperatura, umidade, precipitação e oxigenação), litosfera (processos geológicos) e biosfera (elementos referentes à fauna e flora). Indiscutivelmente, segundo os autores supracitados, os fatores elencados, abióticos e bióticos, interferem em maior ou menor grau nos processos tafonômicos de maneira recursiva, interatuando continuamente, antes da deposição do corpo, durante sua permanência no local e após sua retirada.

Sítios arqueológicos estão sujeitos a uma série de processos tafonômicos que ocorrem entre o tempo em que o corpo é depositado num determinado local e o tempo presente, rememorando que esses processos continuam atuando dentro dos acervos dos museus e das coleções. A tafonomia justaposta à arqueologia permite então, na contemporaneidade, explicar e/ou prever as interações ao longo do tempo entre a matéria orgânica cultural ou naturalmente depositada e as condições ambientais em que foi depositada (LYMAN, 2010). Infelizmente, um significativo contingente dos estudos paleoparasitológicos ocorreu e ocorre em materiais preservados em ambientes que não proporcionaram um ótimo nível de preservação, por motivos diversos, o que provavelmente se reflete no diagnóstico e na representatividade dos achados parasitológicos publicados.

Ainda em relação à tafonomia dos coprólitos, tipo de amostra contemplada nesse estudo, Souza (2013) prossegue admitindo que os processos tafonômicos, a escavação arqueológica, a retirada do local original sem critérios, o transporte impróprio ou ainda o armazenamento inadequado dos coprólitos podem deveras comprometer a configuração original do material, impossibilitando assim a identificação zoológica morfométrica. No entanto, a autora descreve que para essas situações, os resultados paleoparasitológicos obtidos, bem como os resultados de estudos que enumeram os macroresíduos e microresíduos existentes nos coprólitos são capitais para a sua identificação. Identificação zoológica essa, prossegue a autora, ainda mais induvidosa quando encontramos formas evolutivas de parasitos específicos de uma determinada espécie de animal, como é o caso do parasito diagnosticado no presente estudo.

Em 1986 ocorreu a primeira discussão sobre quais as condições ideais de preservação de coprólitos em diferentes formas de depósitos e sobre quais fatores poderiam operar na

deterioração ou na conservação de vestígios de parasito neste material (REINHARD *et al.*, 1986). Esses autores consideraram que os locais que proporcionam melhores condições de preservação de ovos de parasitos seriam os ambientes com maior umidade e sem demasiada disponibilidade de oxigênio, bem como ambientes áridos, corroborando com a citação de Souza (2013) supracitada.

Embora já sejam conhecidos ao longo dos anos os fatores que podem colaborar, interferir ou mesmo acelerar a degradação de material arqueológico, em suas diversas fontes, os autores concordam que muito ainda precisa ser elucidado, especialmente na questão de realização de estudos experimentais, pois esses ainda são pouco frequentes, principalmente quando buscam justificar elementos que poderiam trazer a negatividade de vestígios de parasitos em amostras remotas. Desse modo, apesar das iniciativas nas discussões que abordam os fatores tafonômicos que interferem ou colaboram na preservação de vestígios de parasitos, Camacho *et al.* (2013) destacam que ainda há muito a se fazer, especialmente relacionado à questão experimental, na busca de esclarecimentos na prática de quais elementos e o quanto eles interferem na preservação de parasitos em material arqueológico.

Em relação à interferência "humana" imputada à preservação de material antigo no tangente à aplicação de metodologias necessárias para a exploração científica do material, um elemento relevantemente avaliado sobre a alteração/degradação de parasitos em amostras foi estudado em 1986 por Reinhard et al. Nesse estudo, os autores averiguaram que a alteração da consistência sólida dos coprólitos, para pastosa ou líquida, após a aplicação de métodos de processamento indispensáveis à aplicação de técnicas parasitológicas e que permitem a subsequente análise microscópica do material, como a reidratação das amostras, larga e tradicionalmente consolidada em solução aquosa de fosfato trissódico (Na3PO4) a 0,5% (CALLEN; CAMERON, 1960), podem sim acarretar pequenas modificações como a diminuição do tamanho dos ovos e provocar o enrugamento em suas cascas. Contudo, os mesmos autores ressaltam que essas modificações não inviabilizam o diagnóstico parasitológico (REINHARD et al., 1986). No estudo citado anteriormente, averiguou-se também a interferência do pH alcalino e ácido na preservação dos ovos de parasitos em coprólitos, e concluíram que o pH adjudicava pouco efeito na preservação. Em contraponto, posteriormente, os resultados obtidos por Shin et al. (2009a) e Searcey et al. (2013) indicaram que o pH alcalino seria o ideal para a preservação de ovos (embrião/larva) de parasitos.

A respeito dos fatores bióticos como elementos importantes da tafonomia que podem causar alterações na conservação de ovos de parasitos, influenciando nos estudos e

consequentemente na representatividade de uma determinada infecção pretérita, além e sucedendo o estudo de Reinhard *et al.* (1986), onde a casca de ovos de *Trichuris* sp. foi decomposta, sugerindo que fungos poderiam atuar na decomposição dos ovos de parasitos, outros estudos experimentais já realizados apontaram que algumas espécies de fungos coprófagos conseguem afetar a preservação de ovos por meio do crescimento e penetração do micélio (hifas e filamentos) no interior destes, acarretando adulterações ou mesmo a degradação da casca e dos embriões parasitários, e essa atividade fúngica ovicida interferiria assim na recuperação de ovos em material antigo (ARAÚJO, J.V. *et al.*, 2008; HOFSTÄTTER *et al.*, 2017).

Uma exemplificação icônica do potencial da interferência dos aspectos tafonômicos, como os fungos anteriormente citados, nos achados e deduções paleoparasitológicas é o caso de *Ascaris lumbricoides*. Considerando que este possui distribuição transcontinental e permanece como um dos parasitos mais frequentes na população atual (REY, 2008; WHO, 2020), porque então, segundo questionamento de Leles *et al.* (2010) *A. lumbricoides* é raramente diagnosticado na América pré-histórica?" Os autores supracitados conduzem a refletir sobre a diferença entre os panoramas epidemiológicos desse parasito, no passado e no presente. Do mesmo modo, os autores enumeram algumas possibilidades de respostas, entre elas e como principal, a potencial ação tafonômica dos fungos coprófagos atuando na degradação desses vestígios parasitológicos. Essa suposição foi embasada na relativa frequência de achados e identificação de esporos de fungos em amostras das Américas, conforme Leles *et al.* (2010).

Por fim ressalta-se, em concordância com Le Baille *et al.* (2010), que qualquer fator natural ou comportamental, que degrade, implique ou colabore com a não preservação do embrião/larva, impediria e/ou dificultaria a aplicação de técnicas diagnósticas de parasitos, a realização da quantificação OPG e consequente inferências paleoepidemiológicas, bem como a aplicação de técnicas de biologia molecular, de modo que a alteração ou mesmo a ausência de material genético seria calamitosa para a Paleoparasitologia e diversas outras ciências correlatas. Mesmo sendo muito já conhecido, ainda assim, segundo afirmaram recentemente Camacho, Perri e Reinhard (2020), a tafonomia continua como um capítulo da Paleoparasitologia que solicita investigação sobre a influência de cada fator na degradação do ovo do parasito.

7 TÉCNICAS LABORATORIAIS PARA DIAGNÓSTICO DE PARASITOS E ADAPTAÇÕES PARA APLICAÇÃO EM MATERIAL ARQUEOLÓGICO: SÍNTESE

A grande maioria dos parasitos intestinais pode ser diagnosticada pelo exame parasitológico de fezes, e é notável a variedade de metodologias existentes para o reconhecimento das espécies de parasitos (PRICE, 1993; MARIANO *et al.*, 2005). Apesar dos inúmeros métodos existentes, utilizados para o exame parasitológico de fezes, é fato que cada um apresenta suas limitações, vantagens e desvantagens, seja na complexidade metodológica, na sensibilidade, no nível de especificidade, no alto custo de execução, podendo este último restringir ou mesmo inviabilizar seu emprego na rotina laboratorial (CHAVES *et al.*, 1979; CROZETTA, 2012; SOARES, 2016).

Nos anos 1990, diante de inúmeros e relevantes resultados, obtidos com metodologias diversas e em distintas fontes remanescentes do passado, os pesquisadores da área concordaram que a fundamental questão metodológica que agora se alocava em Paleoparasitologia referia-se a confiabilidade do diagnóstico que envolvia três aspectos principais, aspectos esses que têm sua importância vigorando até o presente momento. São eles: 1- a identificação da origem zoológica do material; 2- as possíveis alterações morfológicas das formas parasitárias resultantes da dessecação ou outros fatores físicos e biológicos que interferem nesta, ou seja, os aspectos tafonômicos e 3- e não menos importante, o diagnóstico do próprio parasito, com uso de técnicas que permitam a identificação específica desse (ARAÚJO E FERREIRA, 1998; ARAÚJO et al., 1998; SOARES, 2016; SOUZA, 2017).

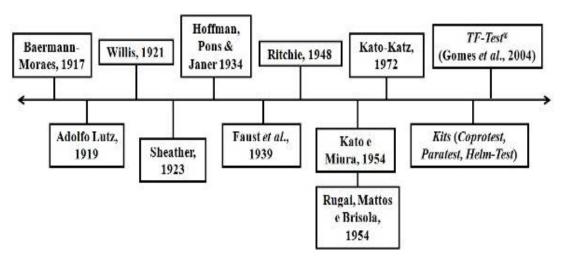
De forma geral as técnicas qualitativas são aquelas utilizadas para identificação da presença e o diagnóstico dos parasitos, porém sem as quantificar. Enumerando as mais utilizadas em fezes recentes temos: exame direto; sedimentação espontânea ou método de Hoffman, Pons e Janer (1934); sedimentação por centrifugação ou método de MIF ou BLAGG; método de Faust; Sequeira TCG (SEQUEIRA; KATAGIRI; OLIVEIRA, 2010) que combina e adapta duas técnicas de sedimentação, os métodos de Baermann-Moraes; método de Rugai e sedimentação de Ritchie (1948) modificado por Young *et al.* (1979), entre outras (FAUST et al., 1938; SCHOLZ *et al.*, 2009; CROZETTA, 2012; SOARES, 2016; DIB *et al.*, 2019).

Dentre as técnicas quantitativas, aquelas que estimam a intensidade da infecção por meio da contagem de OPG, mais replicados em fezes recentes podemos citar: método de Stoll; método de Bell; método de Kato-Katz; de Ritchie, com as modificações introduzidas por Knight *et al.* (1976) e *kits* comerciais *Coprotest*® e *Paratest*®, Flutuação de Gordon e Whitlock

modificado, entre outras (AMATO-NETO e CORRÊA, 1990; ARAÚJO. A. J., 2003; NEVES, 2005; CROZETTA, 2012; SANTOS *et al.*, 2020).

Na figura 2, temos um organograma elaborado por Soares (2016), ilustrando algumas das técnicas empregadas para o diagnóstico parasitológico, organizadas cronologicamente.

Figura 2 - Evolução cronológica das técnicas empregadas para o diagnóstico parasitológico de fezes



Fonte: SOARES (2016).

Vale lembrar que a escolha do método depende de diversos fatores, como volume, peso e consistência das fezes, tipo de parasito a ser buscado, orçamento disponível, entre outros fatores. E ainda que, do ponto de vista prático, fatores como volume do material examinado, amostras coletadas em dias seriados ou não, de que porções de um mesmo bolo fecal advém a amostra, número de ovos produzidos pelo parasito, sensibilidade do método, bem como a carga parasitária deste, podem influenciar densamente no diagnóstico (FERREIRA; ARAÚJO; REINHARD, 2011; CROZETTA, 2012; REY, 2013).

7.1 TÉCNICAS APLICADAS NA ABORDAGEM QUALITATIVA PALEOPARASITOLÓGICA – PATOECOLOGIA

A análise de coprólitos, múmias e sedimentos fornecem evidências diretas de parasitismo e permitem a investigação da relação humano-parasita simbiótica. Assim muitas técnicas aplicadas em material recente, como fezes, foram e são replicadas na íntegra na Paleoparasitologia, mas a maioria delas passa por adaptações para uso em amostras antigas (FAULKNER e REINHARD, 2014; MITCHELL, 2017). O passo inicial foi dado no início do século 20, onde em estudos precursores, Sir. Armand Ruffer utilizou seccionamento histológico e coloração para identificação dos ovos, sendo este o pioneiro diagnóstico de infecções em populações do antigo Egito, e deveras, esse achado positivo só foi possível com o desenvolvimento de técnicas que efetuassem a reidratação de tecidos mumificados (RUFFER, 1910, 1921; ARAÚJO e FERREIRA, 1998; GONÇALVES, ARAÚJO, FERREIRA, 2002).

Imprescindivelmente, para as análises de microscopia óptica, um material antigo, precisa ser reidratado, recuperando sua consistência para ser sedimentado e na sequência empregadas técnicas de concentração de cistos e ovos de parasitos e realização de análise microscópica da matéria (REINHARD, BRYANT, 2008).

De forma geral, a respeito da fase inicial do processo laboratorial que é de reidratação da amostra, inicialmente, segundo Araújo *et al.*, (1998) parasitologistas lançaram mão de diferentes técnicas de flotação. Estas técnicas foram deveras eficazes em sedimentos não consolidados, onde, lembram os autores, os ovos dos parasitos estão bem preservados. No entanto, as técnicas clínicas padrão não foram eficazes quando os parasitologistas aplicaram as mesmas metodologias de reidratação em coprólitos, pois estes são dessecados e às vezes mineralizadas.

A partir de Callen e Cameron, na década de 1960, quando trabalhavam na reidratação de coprólitos para estudar restos de comida, ovos de parasitos e corpos estranhos, tivemos um marco para o uso de técnicas parasitológicas usuais, com adaptações, para aplicação na Paleoparasitologia (REINHARD, 1986; CHAVES, REINHARD, 2003).

Na década seguinte, anos 70, houve uma crescente nos estudos de Paleoparasitologia, com a técnica de reidratação com fosfato trissódico sendo amplamente aplicada, principalmente nos grupos de estudiosos americanos, sendo uma práxis adaptada advinda dos métodos usados para reidratar espécimes zoológicas dessecados em museus (VAN-CLEAVE e ROSS, 1947; CHAVES, REINHARD, 2003; FERREIRA, 2011). Assim, a utilização de solução de fosfato

trissódico (Na3PO4) a 0,5% por período mínimo de 24 horas, tornou-se usual e de replicação cosmopolita, mostrando-se eficaz na reidratação de amostras antigas, e a partir desse marco, ovos e larvas passaram a ser diagnosticados com frequência e de tal maneira, que os principais métodos de extração usados atualmente nos principais laboratórios de Paleoparasitologia em todo o mundo lançam mão da técnica fielmente ou de método que derivam da elaboração <u>Callen</u> e Cameron (1960), o que contribuiu e contribui relevantemente para a metodologia dos estudos coprológicos na Paleoparasitologia (CALLEN e CAMERON, 1960; REINHARD *et al.*, 1986, 1998).

No caso em que as amostras de coprólitos estejam parcialmente ou completamente mineralizadas, a recomendação é de adição de gotas de ácido clorídrico (HCL) a 40% na solução de Na3PO4 a 0,5% e a fim de possibilitar a reidratação (FERREIRA, 2011).

Após o processo de reidratação, com vistas a aumentar o potencial da recuperação de ovos e restos de parasitos em amostras antigas e subsequente identificação morfométrica destes, diversas técnicas podem ser elencadas. A escolha desta dependerá do tipo de material, da escolha da abordagem no âmbito da Paleoparasitologia, dos objetivos do estudo e do achado que se queira buscar. Temos como exemplo de busca de parasitos e/ou outros achados qualitativos: Lutz (1919), a flutuação centrífuga de sacarose modificada (HUBBER, BONFIM, GOMES, 2003) e flotação centrífuga de sulfato de zinco (FAUST).

Podemos citar também a centrifugação de Sheather, advinda da medicina veterinária, com destaque para seu potencial na capacidade de recuperação relativa de ovos tafonomicamente alterados, bem como à aplicação de técnicas advindas da palinologia, principalmente no tangente à recuperação dos ovos de parasitos com boa conservação morfologica, advindos de sítios de ótimo nível de preservação (DRYDEN et al., 2005; BAKELS, 2020; BARBERA; HERTZELB; REINHARD, 2020; GUEDES et al., 2020). Quanto às duas últimas exemplificações, Barbera, Hertzelb, Reinhard (2020), em estudo recentemente publicado, tentaram simplificar os métodos de parasitologia aplicados em amostras antigas, especialmente em sedimentos arqueológicos, que segundo Morrow et al. (2016), em relação à coprólitos e tecido mumificado, apresentam as condições tafonômicas mais variáveis. Esse estudo arroga ênfase nos aspectos tafonômicos, que podem causar danos à matéria orgânica, como por exemplo, a decorticação de ovos, sendo estes danos na membrana dos ovos relatada por diversos autores como algo mais frequentemente relatado nos últimos anos (ANASTASIOU; MITCHELL, 2013a, 2013b; YEH et al., 2016, LEDGER et al., 2018; KNORR et al., 2019; ROCHE et al., 2019).

Vale ressaltar, que termos consolidação de técnicas seguras e eficientes, que levem em consideração os aspectos tafonômicos, pode impactar diretamente nos achados qualitativos paleoparasitológicos, diminuindo ou até mesmo descartando a possibilidade de que amostras de sítios arqueológicos importantes ou até inéditos sejam negativadas, o que já aconteceu inúmeras vezes em estudos realizados em décadas anteriores (MARTINSON *et al.*, 2003; SANTORO, VINTON, REINHARD, 2003; CAMACHO *et al.*, 2018).

Ainda quanto à utilização e adaptação na Paleoparasitologia de técnicas advindas da palinologia, os experimentos corroboram com os resultados positivos que outros pesquisadores já obtiveram quando testaram métodos derivados da palinologia (ARAÚJO *et al.*, 2000; FLORENZANO *et al.*, 2012; BARBERA, HERTZELB, REINHARD, 2020). Esses últimos autores destacam a combinação de ácido clorídrico (HCl) e o ácido fluorídrico (HF) como um método de extração eficaz, "sugerindo que a capacidade dos ácidos de quebrar e dissolver carbonatos e partículas de sílica é crucial para a recuperação de grandes quantidades de restos do parasito, além de preservar sua morfologia intacta".

Contudo, a centenária técnica de sedimentação espontânea de LUTZ (1919), posteriormente, encorpada pelo embasamento de Hoffman, Pons e Janer em 1934, abundante e mundialmente aplicada em análises coprológicas em material recente, ao longo do tempo, também foi se consolidando como uma das mais sensíveis para uso em material antigo. Mesmo apresentando a possibilidade da desvantagem de carrear grande quantidade de detritos fecais no sedimento final a ser analisado, apresenta como vantagens: a simplicidade e amplo espectro; o custo da aplicação da técnica; o fato de permitir uma concentração de maior número de ovos presentes na amostra, aumentando as chances de detectar ovos, mesmo em pequeno número, o que é relativamente frequente em amostras antigas, e por fim, o fato de permitir a montagem de um significativo contingente de lâminas (REINHARD *et al.*, 1986; DE CARLI, 2001; 2007; HUBBER *et al.*, 2003; GOMES, 2004; GUEDES et al, 2020; LIMA *et al.*, 2020).

Na sequência da abordagem patoecológica, temos o diagnóstico do parasito e dos outros elementos contidos na amostra. Nos estudos com foco no diagnóstico paleoparasitológico, sem dúvidas, a identificação e comparação morfométrica do parasito por microscopia ótica tem sido a principal ferramenta. Não obstante, ao longo dos anos, outras técnicas, incluindo imunologia e microscopia eletrônica, foram introduzidas, mas estas agregam valores e não a substituem (FOUANT *et al.*, 1982; ARAÚJO *et al.*, 2000).

7.2 TÉCNICAS APLICADAS NA ABORDAGEM QUANTITATIVA PALEOEPIDEMIOLOGIA

"Atualmente, pesquisas parasitológicas em material arqueológico estão se voltando para questões de cunho epidemiológico" (CAMACHO, 2018, p.27). Desde 2000 os autores alertam paulatinamente que para além do registro do achado, ou seja, a identificação de formas parasitárias em amostras antigas e seus desdobramentos patoecológicos, com vistas a ir de encontro às novas perspectivas da Paleoparasitologia, é indispensável, quando possível, aplicar metodologias quantitativas que permitam determinar a quantidade de ovos por grama (OPG), estimando a intensidade de infecção naquele grupo, avaliando assim o padrão da distribuição dos parasitos e estabelecendo a possível relação entre a infecção parasitária e o processo do adoecimento, como por exemplo, na identificação de patologias ósseas (REINHARD; BUIKSTRA, 2003; RÁCZ *et al.*, 2015; CAMACHO *et al.*, 2018; MORROW; REINHARD, 2018).

O Método de quantificação de ovos Stolls (1923) modificado por De Carli (2007), elencado no presente estudo como a técnica realizada na quantificação-controle, ou seja, no montante de fezes recente, foi inicial e amplamente aplicado em amostras de origem do período medieval na Europa. Essa metodologia de quantificação, também aplicável em amostras antigas, foi formalizada nessa esfera por Jones e Hall (1983), Jones (1985) e Jones e Nicholson (1988) todos apud Reinhard (1992). No início da arqueoparasitologia, os métodos de Stolls e palinologia foram reconhecidos como equivalentes na quantificação (REINHARD *et al.*, 1986).

Na América do Norte, especialmente início na década de 80, métodos palinológicos empregados na recuperação e identificação de pólen foram adaptados e aplicados nos estudos paleoparasitológicos (REINHARD 1986; FISHER et al., 2007; TRIGG et al., 2017). O ator principal na determinação de OPG, nessa metodologia, passou a ser a adição de esporos de plantas exóticas (*Lycopodium*) na fase de reidratação, numa quantidade conhecida e proporcional ao peso da amostra. Esse contingente de esporos (cada um tablete apresenta aproximadamente 12.500 esporos) precisa ser dissolvido em ácido clorídrico (HCl) para que haja a dissolução do tablete sólido e a separação dos esporos, a fim de que se espalham aleatoriamente à amostra (REINHARD, 1986; CAMACHO, PERRI, REINHARD, 2020). Dessa forma, nessa técnica, o diagnóstico quantitativo fomenta-se na proporcionalidade da

contagem de ovos em relação a um número mínimo de esporos previamente estabelecido (MORROW, 2016; PEARSALL, 2016).

Os dados quantitativos na esfera da Paleoparasitologia atualmente, são obtidos, majoritariamente, por meio da aplicação de métodos desenvolvidos em três principais laboratórios, sendo esses internacionalmente reconhecidos e aqueles replicados, liderados por renomados pesquisadores e seus grupos de pesquisa. São eles:

- ✓ Método de quantificação Americano: grupo liderado pelo Dr. Karl Jan Reinhard do Pathoecology Laboratory, School of Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln, EUA.
- ✓ Método de quantificação Inglês: grupo liderado pelo Dr. Piers Mitchell do Leverhulme Centre for Human Evolutionary Studies, University of Cambridge, Reino Unido.
- ✓ Método de quantificação Sul-coreano: grupo liderado pelo Dr. Dong Hoon Shin do Institute of Forensic Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Coreia do Sul.

Suas respectivas técnicas e algoritmos matemáticos para a obtenção da estimativa de quantificação de parasitos estão descritas no capítulo de materiais e métodos do presente estudo e suas vantagens e limitações encontram-se contempladas no capítulo de resultados e discussão. O quadro 1 a seguir, representa a síntese das etapas dos três métodos de quantificação de OPG supracitados, onde podemos visualizar de forma mais prática as semelhanças e diferenças que as permeiam.

Quadro 1 - Resumo das etapas de quantificação de OPG em amostras antigas. Técnicas: Americana, Inglesa e Sul-coreana.

País e Marco teórico	Reidrataçã o	Tempo de repouso	Sedimentaçã o	Precipitad o Final	Montagem das Lâminas	Quantificaçã o e estimativa de OPG
EUA REINHAR D et al. (1986)	Na3PO4 +HCl- 10% +Lycopodiu m	24 h Refrigeraçã o	Imediata Auxiliada: jato fino de AD e espátula. Malha de 250µm	Centrífuga 3.600 rpm 40s	Pipetados 200 µl ≠ locais e profundidad e 45 a 55 L	(((p/m) × a)/w, ((Ovos contados / 200) x 12.500 / peso da amostra)
Inglaterra YEH et al. (2016)	Na3PO4	1 h Refrigeraçã o	24h Malha de 250μm	Centrífuga -3.600 rpm-40s	Pipetados 200 μl ≠ locais e profundidad e	Contagem do número de ovos X por 5
Coreia do Sul HOON SHIN et al. (2009)	NaPO3- 20ml	7 dias em temp amb + Agitação diária	24 horas, Gaze tripla	Solução de Railliet & Henry Centrífuga	Pipetadas subamostra s de 20µl de 12 a 18 vezes	Ovos um a um de todas as L (somatório) X peso da amostra total.

Fonte: COSTA, A.C., 2020.

8 ÁREA DE ORIGEM DAS AMOSTRAS DO ESTUDO

Inicialmente é preciso compreender a designação de sítio arqueológico. Para isso, concisamente Butzer (1984) apud Amaral (2007, p.16) cita que

[...] Os sítios ou conjunto de sítios arqueológicos fazem parte do ecossistema humano, uma vez que as comunidades do passado desenvolveram uma relação espacial, temporal, social e econômica com o meio ambiente a que estavam adaptados.

Dessa forma, os sítios arqueológicos são percebidos como um conjunto de indícios vestigiais e espaciais que permitem, a partir de pesquisas intensivas e sistemáticas na área, reconstituírem o modo de vida dos grupos que neles habitaram, sendo entendidos, pois, como o registro tangível de um lugar de atividade humana do passado. Assim, aliar os conhecimentos do ecossistema humano às evidências arqueológicas de cunho material e simbólica, permitirá abrir perspectivas verdadeiramente ecológicas de compreensão das sociedades inseridas em um contexto macro ambiental (AMARAL, 2007; SILVA, MELO, 2011; CASCARDO, 2017).

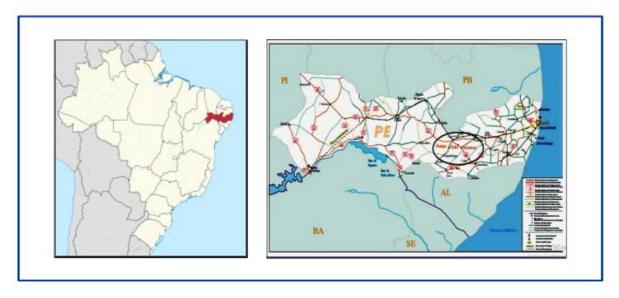


Figura 3 - Localização geográfica do Estado do Pernambuco e do Parque Nacional do Vale do Catimbaú, Pernambuco, Brasil

Fonte: Amaral, 2007.

A região da Borborema, conforme mostra a figura 3 acima, onde se localiza a região fisiográfica do agreste do Pernambuco, é o maior e mais elevado bloco contínuo do Nordeste brasileiro, com altitudes médias de 600 metros. Pertencente à microrregião do município de Venturosa, o Sítio arqueológico Pedra do Tubarão loca-se nas coordenadas 8°32'21" latitude sul e 36°48'08" longitude oeste e tem como destaque uma grande rocha granítica, naturalmente partida, que possui uma de suas faces em formato semelhante à cabeça de um tubarão, como mostra a figura 4 abaixo. Em sua outra face há uma formação em paredão com aproximadamente 20 metros de altura e abertura em triângulo (AMARAL, 2007; INVTUR – PE, 2017).



Figura 4 - Imagens da Pedra do Tubarão, Parque Nacional do Vale do Catimbaú, Pernambuco, Brasil

Fonte: http://inventariope.blogspot.com/search/label/Venturosa.

O Parque Nacional da Serra do Catimbau, onde o sítio se insere, é o segundo maior parque arqueológico do Brasil, sendo considerada uma área de extrema importância arqueológica, por possuir muitos e diversificados registros de pinturas rupestres e resquícios da ocupação humana pré-histórica, registros estes que datam de mais de 6.000 anos. Neste Parque, há mais de trinta sítios arqueológicos, nos quais, as pinturas rupestres foram realizadas por

vários grupos étnicos de épocas distintas, cuja diversidade está visível na riqueza das figuras (SILVA; MELO, 2011).

As pesquisas mais relevantes na região de Venturosa, foram desenvolvidas no final da década de 80 e início de 90, nelas os artefatos abundantes de pedra e as datações obtidas, revelaram que os grupos que ocuparam essa região eram caçadores-coletores que exploravam o território e depois se deslocavam em função da escassez de recursos naturais. A demanda do território ocupado, ou seja, das áreas onde foram estabelecidos os sítios pelos grupos, implica na existência de uma rota frequente em função do esgotamento de recursos naturais disponíveis nas áreas, mas, vale ressaltar que entre os diversos sítios do Estado, o Sítio da Pedra do Tubarão, foco deste estudo, tinha uma população não só de caçadores-coletores, mas também de ceramistas e as escavações de 1989 concluíram que os abrigos deste sítio se constituíram em local de habitação e não só de passagem (MARTIN, 1996; 2005; AMARAL, 2007).

Dois sítios dessa região agreste tiveram destaque e foram escavados nesse período, os sítios Pedra do Tubarão e Cemitério do Caboclo, distantes um do outro, aproximadamente 200 metros. O sítio Pedra do Tubarão foi caracterizado por Luft (1990) como espaço de habitação dos grupos que ali estiveram, onde foram encontrados materiais ósseos, cerâmicos, líticos, além de estruturas de fogueiras, todos com datação entre 1.700-2.000 anos AP. Para Luft, os dois sítios estão relacionados entre si, formando um único complexo do mesmo grupo, não só pela proximidade geográfica, mas também pelo encadeamento, onde o primeiro refere-se ao espaço de doméstico, de habitação do grupo e, o segundo, ao cemitério desse grupo que habitou a Pedra do Tubarão.

Especificamente em 1989 foi realizada pela Universidade Federal do Pernambuco (UFPE) a maior escavação desse sítio, via segunda fase do "Projeto Agreste" com duração prevista para dez anos, onde foram recuperados, classificados, etiquetados, identificados e retirados centenas de elementos arqueológicos: ossos, dentes, adornos fúnebres, pingentes de caçadores com contas de osso de aves e sementes, elementos de fogueira, material lítico com origem em quartzo, granito e arenito, cerâmicas, restos alimentares como ossos de mamíferos e répteis, dentre outros, sendo que todos os elementos foram para o acervo da coleção de história natural da UFPE e catalogados na Tese de doutorado de LUFT (1990).

No Cemitério do Caboclo e Pedra do Tubarão, os enterramentos secundários se caracterizam pela desordem dos ossos e práticas crematórias com os ossos distribuídos de forma homogênea por toda camada, mas, os ossos (classificados como no mínimo 24 indivíduos, sendo 15 adultos e 9 jovens) e consequentemente os sedimentos, embora muito fragmentados,

estão também bem conservados, devido a proteção oferecida pelo abrigo das encostas rochosas (AMARAL, 2007).

No tangente a temporalidade das amostras do estudo, foram efetivadas pela UFPE três datações diretas realizadas em restos de ossos humanos do Cemitério do Caboclo, e essas indicaram que o espaço funerário foi usado por cerca de 1.000 anos AP, conforme apresentado na tabela 1.

Tabela 1 - Datação direta por espectrometria de massa de acelerador (AMS) em ossos humanos no cemitério de Caboclo

Amostra	Datação	Datação calibrada	Datação calibrada (AP)
	convencional	(Anno Domini)	
Beta 474450	1080 6 30 AP	966-1045 cal AD	984-905 cal AP
Beta 474451	1040 6 30 AP	990–1054 cal AD	960-896 cal AP
Beta 476352	1000 6 30 AP	1024–1154 cal AD	926-796 cal AP

Fonte: AMARAL (2007).

9 JUSTIFICATIVA

Considerando:

Que a história natural das doenças e do adoecer do homem desde os tempos remotos atrai a atenção de diversas ciências. E nesse panorama, as infecções, com ênfase no parasitismo, destacam-se, sendo um problema de saúde pública que permanece até hoje em muitos países, impactando em maior ou menor magnitude a vida do indivíduo e da população.

Que a Paleoparasitologia visa contribuir para elucidar as lacunas do conhecimento sobre a morbimortalidade de populações no passado, auxiliando no estudo da evolução da relação da tríade parasito/hospedeiro/ambiente. E que esta vem buscando novas perspectivas, com o desenvolvimento de abordagem paleoepidemiológica e patoecológica, onde objetiva não só evidenciar a presença do parasito, como também a relação entre o ambiente e o modo de vida com a presença e manutenção de infecções entre os grupo humanos, além do impacto destas na saúde das populações antigas.

Que há décadas, em todos os continentes, evidências parasitárias vêm sendo recuperadas de material arqueológico e a parasitologia justaposta à arqueologia, biologia, ecologia e outras ciências vem cada vez mais vem valorizando a abordagem quantitativa nos estudos da paleoepidemiologia, por meio da quantificação de OPG e esta pode permitir identificar o potencial patológico que um determinado parasitismo proporcionou num grupo humano, em diferentes períodos e locais.

Que os dados quantitativos, no cenário atual, são obtidos por meio da aplicação de métodos desenvolvidos em três principais laboratórios liderados por pesquisadores e seus grupos de pesquisa em Paleoparasitologia, a saber: 1) Grupo liderado pelo Dr. Karl Jan Reinhard do Pathoecology Laboratory, School of Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln, Estados Unidos, 2) Grupo liderado pelo Dr. Piers Mitchell do Leverhulme Centre for Human

Evolutionary Studies, University of Cambridge, Reino Unido e 3) Grupo liderado pelo Dr. Dong Hoon Shin do Institute of Forensic Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Coreia do Sul.

Considerando também, que a eficiência das técnicas citadas ainda não foi testada num experimento comparativo simultâneo, de modo que não há "padrão-ouro" estabelecido para obter dados quantitativos em Paleoparasitologia.

Que quanto à origem do material arqueológico analisado patoecologicamente, o Parque Nacional da Serra do Catimbaú (Pernambuco-Brasil) é o segundo parque brasileiro em número de sítios arqueológicos, no entanto poucos são os estudos paleoparasitológicos publicados e, nenhum sobre o sítio arqueológico abordado "Pedra do Tubarão".

O presente estudo foi aprovado previamente em exame de qualificação, como proposta de tese de Doutorado, buscando englobar duas abordagens: a análise paleoparasitológica de um sítio arqueológico brasileiro, visando ampliar os conhecimentos acerca das infecções por parasitos que acometiam populações que habitavam aquele sítio (resultado qualitativo) e de forma paralela, um experimento comparativo, na busca por uma técnica quantitativa que seja eficiente em estimar a quantidade de OPG, a fim de contribuir para estudos populacionais com direcionamento paleoepidemiológico.

10 OBJETIVOS

GERAL

Realizar análise paleoparasitologica de amostras de sedimentos e coprólitos provenientes do Sítio Arqueológico Pedra do Tubarão, Pernambuco, Brasil e verificar, experimentalmente, a eficiência de técnicas quantitativas aplicadas em abordagens populacionais na Paleoparasitologia

ESPECÍFICOS

- a) Diagnosticar formas imaturas de parasitos em amostras de coprólitos e sedimentos oriundos do Sítio arqueológico Pedra do Tubarão/Cemitério do Caboclo;
- b) Confeccionar *pool* de fezes recentes, positivo para *Ascaris lumbricoides* e estimar a quantidade de OPG neste;
- c) Confeccionar coprólito experimental (controle);
- d) Aplicar as técnicas quantitativas utilizadas pelos grupos de pesquisa em Paleoparasitologia dos países: Estados Unidos, Inglaterra e Coreia do Sul, no coprólito experimental, e comparar as estimativas de OPG obtidas antes e após a confecção do coprólito experimental, de modo a testar a eficiência das técnicas quantitativas em Paleoparasitologia.

11 MATERIAL E MÉTODOS

11.1 TIPO DE ESTUDO

O presente estudo caracteriza-se como pesquisa quantitativa, descritiva, experimental. Na figura 5 abaixo, visualiza-se o organograma com as abordagens paleoparasitológicas e percurso metodológico adotados.

Figura 5 - Organograma do percurso metodológico do estudo por tipo de abordagem Paleoparasitológica



Fonte: COSTA, A.C., 2020.

11.2 MATERIAL

Neste estudo foram analisadas 10 amostras, num total de 40,2 g de sedimentos e coprólitos provenientes do Sítio Arqueológico Pedra do Tubarão, localizado no Parque Nacional da Serra do Catimbau, situado entre os Municípios de Buíque/Pesqueira/Venturosa, Pernambuco, Brasil. As amostras foram gentilmente cedidas pela Arqueóloga Dra. Ana Solari, em colaboração com o grupo de pesquisa que orienta o referido estudo. O quadro 2 a seguir, detalha informações pertinentes às amostras.

Quadro 2 - Especificações das amostras arqueológicas analisadas no presente estudo.

Quantidade de amostras	Tipo de material e origem	Peso	Data de coleta
04	Sedimentos oriundos da região da cintura pélvica humana	5,6g 8,8g 4,9g 5,1g	
05	Coprólitos registrados como humanos	2g 5g 3,8g 2g 2g	Entre 13 e 16 de julho de 1989
01	Coprólito de origem animal	1g	
Total: 10		40,2g	

Fonte: COSTA, A.C., 2020.

As amostras provenientes do acervo da Universidade Federal do Pernambuco (UFPE), foram coletadas em 1989 durante a segunda fase do Projeto de pesquisa arqueológica da UFPE, denominado "Projeto Agreste" e se encontravam arquivadas na UFPE em ambiente seco e lacradas, bloqueando assim a possibilidade de degradação/destruição por vandalismo e inibindo ainda a influência de alguns dos principais agentes tafonômicos. As porções elencadas para este estudo foram embaladas, identificadas, vedadas e transportadas em sacos plásticos em temperatura ambiente, para o Laboratório de Paleoparasitologia Eduardo Marques, Departamento de Ciências Biológicas, Fundação Oswaldo Cruz (DCB/FIOCRUZ), sob os cuidados da Dra. Shênia Patrícia Corrêa Novo. Em seguida, foram numeradas conforme registros originais de arqueologia da UFPE e identificadas quanto ao tipo de material, setor e nível de escavação do sítio, peso total e data da coleta arqueológica.

As etapas de processamento, reidratação e análise microscópica das amostras arqueológicas na abordagem patoecológica do estudo foram realizadas nos Laboratórios de Paleoparasitologia e de Palinologia/Ecologia, do Departamento de Endemias Samuel Pessoa, ambos pertencentes à Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca (ENSP/FIOCRUZ), enquanto as leituras microscópicas das lâminas e as contagens de ovos de *Ascaris* sp. para a quantificação, objetivo da abordagem experimental paleoepidemiológica do estudo, foram efetuadas no Laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Pesquisa do Campus Amílcar Ferreira Sobral – Floriano da Universidade Federal do Piauí.

11.3 MÉTODOS

A pesquisa quantitativa descritiva experimental aqui apresentada, utilizou o percurso metodológico que sucedeu em etapas esquematizadas, conforme organograma exposto anteriormente na figura 5 e descritas a seguir.

11.3.1 Diagnóstico paleoparasitológico das amostras do Sítio Pedra do Tubarão.

As 10 amostras de sedimento e coprólitos foram pesadas. Aquelas que possuíam mais de 5g tiveram uma porção armazenada com intuito de preservação de amostras do Sítio para futuras pesquisas, como recomendado por Fugassa e Guichón (2005) e Leles *et al.* (2018), e aquelas com peso inferior ou igual foram totalmente analisadas

Cada amostra foi reidratada por 72 horas em solução aquosa de fosfato trissódico a 0,5% (CALLEN e CAMERON, 1960) até totalizar o volume de 50ml em becker estéril de 100ml de capacidade e durante esse tempo ficaram vedadas com plástico filme e refrigeradas (temperaturas entre 6 e 10° C). Posteriormente, foram submetidas à técnica de sedimentação espontânea (LUTZ, 1919) para a concentração de cistos, ovos e larvas de parasitos, vertidas em malha de 250µm (REINHARD *et al.*, 1986a, 1998). O precipitado de Lutz foi analisado em microscópio óptico (Leica, modelo DM750P com câmera fotográfica acoplada) e a leitura das lâminas realizada com aumento de 40 e 100x. O conteúdo macroscópico da malha, após secagem em estufa, foi identificado e armazenado para análise de dieta e macrorresíduos em futuros estudos.

11.3.2 Contagem de ovos por grama em *pool* de fezes recentes (quantificação-controle)

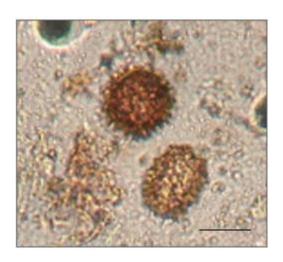
Objetivando a obtenção de estimativa por quantificação-controle de ovos de um determinado parasito para posterior verificação de eficácia dos métodos elencados, foi confeccionado um *pool* (montante) de fezes, recentes e humanas, com material doado que já se encontrava refrigerado. Dessa maneira, cinco coletores plásticos tiveram seus conteúdos misturados em becker. O *pool* fecal obtido permaneceu sob refrigeração em tubo plástico com tampa de rosca e após homogeneização, sua consistência final foi registrada (pastosa-diarreica) com vistas à adaptação de quantificação de ovos (multiplicação x 3) no momento oportuno da aplicação do algoritmo da técnica STOLL.

Para comparar cada método com precisão, realizou-se a contagem do número de ovos de parasitos. Para essa quantificação, foi escolhida e aplicada a técnica de contagem de ovos conforme método de Stoll (1923) modificado por DeCarli (2007) para uso em material fecal recente. Dessa maneira, em 1ml do *pool* de fezes prontas foram acrescidos 14 ml de hidróxido de sódio (NaOH - 1 molar - 99% de pureza), totalizando 15 ml de solução em tubo plástico que foi identificado, agitado manual e vigorosamente por 1 minuto e refrigerado por 12 horas. Após esse tempo, foram pipetados 150µl do centro do tubo e distribuídos em lâminas, constituindo quatro lâminas, preparadas com gotas de glicerol e cobertas com lamínulas. Esse método tradicional de contagem também foi utilizado como base comparativa, nos estudos de Fugassa, Araújo, Gichón. (2006) e Dufour e Le Bailly (2013) onde nesse último os autores citaram [...] "A simplicidade deste método significa que ele poderia ser facilmente estendido através de estudos paleoparasitológicos" (p.203).

Esse processo foi realizado três vezes (Stoll 1, Stoll 2 e Stoll 3) conforme descreve a metodologia, para a realização da contagem precisa de ovos (identificadas de S1 a S12). Essa contagem microscópica obedeceu a seguinte sequência: cada conjunto de 4 lâminas teve sua contagem de ovos de *Ascaris* somada e ao final foi obtida a média parcial das três técnicas de Stoll. Para cada lâmina, foram realizadas duas leituras, minimizando erros mais robustos. A média final foi então multiplicada por 100 e novamente 3, de acordo com a consistência das fezes (pastosa-diarreica), conforme o método recomenda. Assim, obteve-se o número final da técnica de Stoll, sendo este utilizado como parâmetro para a comparação das 3 técnicas que foram realizadas posteriormente no coprólito experimental.

O parasito escolhido para realização da contagem controle no presente estudo, foi o Ascaris lumbricoides, elencado por ser o parasito mais prevalente e distribuído na população atual, além de ser um ovo relativamente de fácil identificação microscópica. Desse modo, conforme as contagens foram sendo realizadas um quadro (quadro 5 apresentado no capítulo dos resultados) foi sendo elaborado. A figura 6 abaixo é a captura de uma das lâminas da técnica parâmetro realizada no *pool* de fezes recente (S 2/L-5).

Figura 6 - Ovos de *Ascaris lumbricoides*. Lâmina montada na técnica de Stoll (quantificação-controle).



Fonte: Registro fotográfico (40x), COSTA, A. C., 2020.

11.3.3 Confecção do coprólito experimental

Para fins de comparação das técnicas tradicionais aplicadas em material antigo com a quantificação por contagem de OPG realizada como controle, foi confeccionado um coprólito experimental, ou seja, um montante de fezes recentes que sofreu desidratação extrema induzida, com vistas a reproduzir ou se aproximar das condições em que se encontram as amostras antigas dessecadas. Essa prática de lançar mão de um parâmetro controle em estudos experimentais, já era visionariamente recomendada na década de 90, como por exemplo, por Bastos *et al.* (1996 apud GONÇALVES, ARAÚJO, FERREIRA, 2002) onde já mencionam em seu estudo que "A utilização de novas técnicas em material antigo deve ser precedida de um estudo controlado em material recente experimentalmente dessecado".

Após retirada a alíquota de fezes para a realização da etapa anterior (contagem-controle), o *pool* foi depositado em placa de vidro estéril de Petri, pesado e colocado em estufa, que permaneceu ligada diuturnamente, a 40° C até que seu peso se estabilizasse, ou seja, fosse constatada a total ausência da perda de água por 48 horas (PUCU *et al.*, 2019). Após constatada

a estabilização do peso, por meio de pesagens diárias, realizadas sempre no mesmo horário (9:00), o coprólito ainda permaneceu na estufa por mais 15 dias, conforme recomendado por Confalonieri (1985) apud Ferreira (2011). Assim, o montante inicial pesou 65,04g e o coprólito experimental final 43,23g, sendo a perda de peso total de 21,81g num processo que durou 23 dias. Desse coprólito foram cuidadosamente separadas três alíquotas de 1g cada para a realização das técnicas correspondentes às metodologias dos países elencados: EUA, Coreia do Sul e Reino Unido.

O material sobressalente foi armazenado para eventual necessidade. As figuras 7 A e B abaixo são os registros fotográficos do coprólito experimental sendo pesado durante o processo de perda de peso (A) e o aspecto no dia final deste (B).

Figuras 7 - Coprólito experimental. A- Pesagem diária. B- Aspecto do coprólito no dia final.





Fonte: Registro fotográfico COSTA, A. C., 2020.

11.3.4 Quantificação de OPG no coprólito experimental

"A quantificação fornece base para uma abordagem epidemiológica e também para estudos comparativos" Reinhard *et al.* (1986, p.224). [...] "Porém, os autores também destacam que nesta conjuntura inicial, os métodos de quantificação de ovos vêm sendo desenvolvidos em laboratórios lançando mão de diferentes metodologias, o que dificulta ou até mesmo

impossibilita a comparabilidade dos resultados relativos à dispersão dos parasitas" (CAMACHO *et al.*, 2018, p.7).

As metodologias aplicadas seguiram o referencial teórico de cada escola de destaque no cenário da Paleoparasitologia internacional, tiveram ordenação de execução estabelecida por meio de sorteio e foram descritas em passos a seguir:

11.3.5 Metodologia aplicada nos Estados Unidos

Pathoecology Laboratory, School of Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln, (Reinhard *et al.*, 1986;1986a)

Alíquota (1g) do coprólito experimental foi depositada em tubo plástico, com 50 ml de capacidade e tampa de rosca, reidratada em solução de fosfato trissódico (Na3PO4) a 0,5%, conforme Callen e Cameron (1960). Assim, para a quantificação de OPG, foram adicionados ao mesmo frasco 500μl de ácido clorídrico a 10% e um tablete de esporos *Lycopodium* (Batch n° 124961 – cada tablete com ± 12.500 esporos compactados). Essa solução, vedada e identificada, permaneceu em repouso e refrigerada por 24 horas. Na sequência, as fezes reconstituídas foram desagregadas com um agitador com intuito de auxiliar na dissolução e homogeneização e peneiradas com auxílio de jato fino de água destilada e espátula de madeira, facilitando o desagregamento e a passagem dos resíduos através da malha de aço de 250μm de espessura, separando assim micro dos macrorresíduos. O fluido foi coletado em becker de vidro de 600 ml antes de ser concentrado em tubos plásticos de 50 ml e os restos microscópicos foram lavados com água destilada.

Os macrorresíduos, retidos na malha metálica, foram depositados em filtros de papel, secos à temperatura ambiente, identificados e armazenados em sacos plásticos com vistas à realização de pesquisas posteriores.

A solução peneirada foi então centrifugada em rotação máxima (3.600 rpm) por 40 segundos, o sobrenadante descartado e do precipitado final foram pipetados, de diferentes locais e profundidade, um total de até 200 µl para a montagem das lâminas, uma a uma preparada com 20 µl cada. A estas foram acrescidas gotas de glicerol e cobertas com lamínula, a fim de facilitar a contagem de ovos concomitante à contagem dos esporos de *Lycopodium*, o que culminou em 45 lâminas no total das 5 repetições.

O número de esporos elencados para a aplicação do algoritmo de quantificação americana foi de 50. A quantificação foi baseada numa fórmula que relaciona o peso da

amostra, o número de esporos de *Lycopodium* adicionados, o número de esporos de *Lycopodium* recuperados durante a análise e o número de microfósseis observados. Dessa forma, conforme a escola teórica seguida, o algoritmo abaixo foi aplicado.

OPG =
$$((p / m) x a)$$
 $= n^{\circ}$ de ovos quantificados

 $= n^{\circ}$ de esporos de $= Lycopodium$ quantificados

 $= quantidade$ de esporos de $= Lycopodium$ adicionados

 $= quantidade$ de esporos de $= Lycopodium$ adicionados

 $= quantidade$ (peso)

11.3.6 Metodologia aplicada na Coreia do Sul

Department of Anatomy, Seoul National University College of Medicine, Korea (Shin *et al.* 2009).

Alíquota de (1g) do coprólito experimental foi depositada em tubo de plástico com capacidade de 50 ml e reidratada em solução de fosfato trissódico a 0,5%, obtendo assim volume de 20 ml. O tubo foi vedado, identificado, permanecendo em temperatura ambiente e agitado manual e vigorosamente durante um minuto todos os dias, no mesmo horário, por sete dias. Após essa etapa, o concentrado reidratado passou por sedimentação espontânea por 24 horas, triagem em gaze tripla em cálice de fundo cônico.

Na sequência, a camada turva superior foi descartada e no intuito de conservar melhor a amostra e evitar a proliferação fúngica, o precipitado foi dissolvido novamente em formalina tamponada neutra a 10% (solução de Railliet & Henry) até atingir o total de 20 ml. O tubo com a solução foi centrifugado por 40 segundos em rotação máxima (3.600 rpm) e por fim foram coletadas subamostras de 20µl, 18 vezes para montagem das lâminas. Procedeu-se então a contagem dos ovos de *A. lumbricoides* por leitura de microscopia ótica e a quantificação foi estimada segundo o algoritmo abaixo:

11.3.7 Metodologia aplicada no Reino Unido

Department of Archaeology and Anthropology, University of Cambridge (Yeh et al. 2016).

A terceira alíquota do coprólito experimental (1g) foi depositada em tubo plástico com capacidade de 50 ml e reidratada em solução de fosfato trissódico a 0,5%, conforme Callen e Cameron (1960), por uma hora. Decorrido esse tempo, o tubo foi agitado, passou por sedimentação espontânea em cálice de fundo cônico e passou por triagem em malha de aço de 250 μm para separação de ovos de parasito. O conteúdo da triagem foi centrifugado por 40 segundos em rotação máxima (3.600 rpm), o excesso de sobrenadante descartado e foram coletados então 200 μl, procedendo a montagem de 10 lâminas em cada repetição, totalizando 50 lâminas.

Na sequência, procedeu-se a contagem dos ovos de *Ascaris* para estimar a quantificação de OPG, seguindo o algoritmo específico. Segundo os autores referenciados, a aplicação desse algoritmo extingue a necessidade de usar esporos de *Lycopodium* sp., impedindo, segundo eles, o potencial enviesamento resultante do processamento de uma alíquota de fluido desagregado de uma amostra original maior, pois não seria improvável que os ovos não se distribuíssem uniformemente por todo o fluido após a desagregação. Abaixo, algoritmo aplicado no grupo de pesquisa inglês:

OPG= Soma dos ovos das Lâminas montadas
(0,2 g da amostra)

X 5 (cinco)

11.3.8 Comparação das técnicas: eficiência de cada método aplicado, levando em consideração a quantificação-controle

Inicialmente, ressalta-se que todas as três metodologias e suas cinco repetições foram realizadas no mesmo local (Laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Pesquisa do Campus Amílcar Ferreira Sobral-Floriano, PI, da Universidade Federal do Piauí), seguindo o mesmo padrão de pipetagem do concentrado de cada amostra, todas as gotas misturadas à gotículas de glicerina 40%, com lamínulas sobrepostas e igualmente analisadas em microscópio de luz (Equipamento Leica modelo 750P) em ampliações de 40x, 100 x e 400 x para a contagem dos ovos.

A comparabilidade de métodos com disparidade de modos de realização, ora mais sutil, ora mais encorpada, inviabiliza uma comparação direta entre o resultado da quantificação

obtida por estes. Por conseguinte, os valores obtidos nos métodos de quantificação prévia à confecção do coprólito e aqueles estimados (no coprólito experimental) de cada método, foram comparados estatisticamente não entre si, mas ao valor estimado na quantificação-controle, sendo esse o nosso parâmetro, de tal modo que a contagem que se aproximasse desse valor indicaria a técnica mais acurada para estabelecer valor de OPG em material arqueológico.

No quadro 1, do presente estudo, apresentado no capítulo 7, tópico 7.2 - Técnicas laboratoriais para diagnóstico de parasitos e adaptações para aplicação em material arqueológico, temos a síntese das principais diferenças das etapas da aplicação das metodologias elencadas.

Vale esclarecer que a quantificação elencada como mais eficaz, não foi aplicada às amostras de coprólitos do sítio arqueológico "Pedra do Tubarão", analisadas para diagnóstico e inferências patoecológicas deste estudo. No conjunto do material antigo recebido, apenas cinco amostras são registradas como coprólito humano. Apesar de estarem em um sítio cuja preservação, no ano em que o material arqueológico foi recuperado, foi considerada satisfatória, comparada a outros sítios brasileiros, para realização de quantificação de OPG para inferências populacionais, o número de amostras é insuficiente. Segundo Jovani e Tella (2006), o mínimo de amostras necessárias para constituir-se como uma população é de 15 coprólitos, além disso, deve ter base em critérios como localização no perfil arqueológico (diferentes eventos de deposição), coloração (humanos ou não) e consistência (diarreica ou não), o que não se aplica nas amostras disponíveis para o estudo, lembrando que elas foram recebidas compactadas e/ou fragmentadas (farelo). Ademais, além do número inferior ao recomendado, os coprólitos foram coletados e armazenados sem se basear nos critérios supracitados e assim, não foi possível avaliar a relação direta entre o parasito e a população humana que habitava o Sítio Pedra do Tubarão de maneira paleoepidemiológica, que é justamente o que a quantificação permite fazer: calcular ovos por grama de fezes e com isso a intensidade de infecção. Porém, o que fora realizado, também relevante, foi evidenciar o achado dos parasitos nessas amostras inéditas, cuja ocupação é de mais de 6.000 anos AP, e relacioná-los com uma possível infecção e consequência desta na saúde daqueles indivíduos, baseando-se nos dados ambientais e culturais, ou seja nos conceitos da Patoecologia.

11.3.9 Modelo Estatístico

A fim de fomentar a comparação entre as metodologias de forma coerente, foi aplicada análise de variância - ANOVA (*one away*) como modelo estatístico, rodado no programa BioEstat 5.3, e na sequência, aplicados dois pós-testes na seguinte ordem: Dunnet e Tukey. O primeiro elencado como apropriado foi o Teste de *Dunnett*, aplicado uma vez que há um método de contagem de referência. Ele apontaria qual seria o método ou técnica significativamente diferente de quem, além de qual ou quais técnicas seria(m) diferente(s) da referência. De forma complementar, para análise a fim de comparar as repetições de leitura e contagem de ovos de *Ascaris* na amostra segundo cada protocolo adotado, foi aplicado também o pós-teste de *Tukey*.

11.3.10 Aspectos Éticos

As amostras de fezes humanas recentes empregadas nesse estudo (alíquota de 30g para confecção do *pool*, cedidas por uma das orientadoras deste estudo, que se encontravam arquivadas em refrigeração, foram utilizadas em estudo anterior que, com o mesmo fim, porém com objetivos diferentes, e por se tratar de experimento exclusivamente laboratorial, recebeu parecer de dispensa do Comitê de Ética da Escola Nacional de Saúde Pública (FIOCRUZ) em 2015, parecer este reiterado após à qualificação do presente projeto de pesquisa (Parecer de Dispensa Ética ENSP: N 14/19).

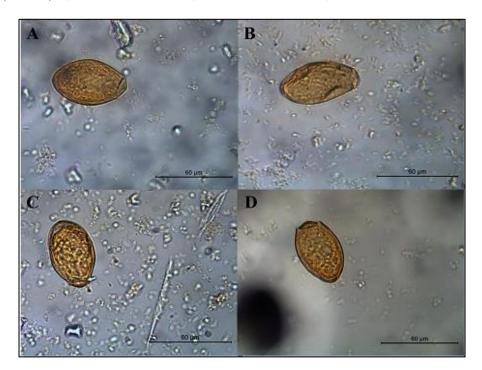
12 RESULTADOS E DISCUSSÃO

12.1 ANÁLISE PATOECOLÓGICA

Das 10 amostras analisadas, oriundas do Sítio Arqueológico "Pedra do Tubarão", Pernambuco-Brasil, com intuito de ampliar o conhecimento de quais parasitos estavam infectando os grupos humanos ancestrais que se valiam daquela região para sua habitação/subsistência, apenas a última (A-516) obteve positividade na busca e identificação microscópica de parasitos. Esta amostra continha grãos de pólen, tecido vegetal, fragmentos ósseos, entre outros elementos macro e microscópicos.

Quanto à análise parasitológica, objeto do estudo, foram identificados 70 ovos bem preservados com as seguintes características: operculados, de cor castanho escuro, com polos assimétricos, formato oval alongado, extremidades pontiagudas, medindo entre 55 e 66 µm de comprimento e entre 27 e 41 µm de largura (Kuchta *et al.*, 2015). Estes foram então diagnosticados morfológica e milimetricamente como ovos de *Spirometra* sp. (Figura 8).

Figura 8 - Ovos de *Spirometra* sp. encontrados em coprólito oriundo do Sítio Arqueológico Pedra do Tubarão, Pernambuco, Brasil. Diferentes lâminas do mesmo espécime. Imagem A: ovo n. 06- L (lâmina) 3; B: ovo n. 32 - L 8; C: ovo n. 56 - L 12; D: ovo n. 70- L 32.



Fonte: Registro fotográfico 100x, COSTA, A. C., 2020.

Spirometra (Cestoda: Diphyllobothriidae) é um cestóide que tem um ciclo biológico complexo, com hospedeiros distintos para completá-lo. Crustáceos de água doce (copépodesgênero Cyclops) se configuram como primeiro hospedeiro intermediário; anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos como segundos hospedeiros intermediários e a forma adulta se desenvolve no intestino de felídeos ou canídeos, sendo estes os hospedeiros definitivos. Em sequência resumida, as proglotes grávidas liberam os ovos no trato intestinal, junto com o material fecal no meio ambiente (TANTALEAN; MICHAUD, 2005; KUCHTA et al., 2015). O embrião termina seu desenvolvimento dentro dos ovos e na água se torna larva de primeiro estágio (coracídio). Ao sair do ovo, seu movimento atrai o primeiro hospedeiro intermediário e ao ser ingerido, o coracídio perde seus cílios e penetra na parede intestinal do copépode para alcançar a forma de larva de segundo estágio (procercóide) (GOMES et al., 1996; KUCHTA et al., 2015). Os segundos hospedeiros intermediários (anfíbios, répteis, pássaros, peixes e alguns mamíferos) são infectados ao ingerir o copépode. A larva procercoide então penetra no lúmen intestinal e migra para os tecidos, músculos subcutâneos ou órgãos internos desses animais e assim, se desenvolve uma larva de terceiro estádio conhecida como plerocercoide ou espargano. Finalmente, o hospedeiro definitivo ao ingerir do segundo hospedeiro intermediário, é infectado com a larva plerocercoide, que em aproximadamente 20 dias se desenvolve em verme adulto e habita o seu intestino. O parasito adulto pode sobreviver por até três anos ou mais no intestino do animal, sendo a sobrevida mais longa (quatro anos) registrada em um gato. As formas adultas realizarão nova postura de ovos, que serão eliminados com as fezes no ambiente, renovando seu ciclo biológico (REY, 2008; QIU; QIU, 2009, 2009a; SCHOLZ et al., 2009; ANANTAPHRUTI et al., 2011; ROBERTS; JANOVY; NADLER., 2013; SOUZA, 2013; MARQUES *et al.*, 2019).

Quanto aos humanos, levando em consideração que estes não são hospedeiros definitivos naturais desse parasito., consequentemente, não há verme adulto em desenvolvimento em seu organismo ou mesmo a presença de ovos em suas fezes, entretanto, ao ingerir acidentalmente o primeiro ou segundo hospedeiro intermediário podem ser infectados (ROBERTS; JANOVY; NADLER, 2013; KUCHTA *et al.*, 2015).

Vale salientar que o comportamento cultural também pode levar a uma infecção. Existem grupos que tem como cultura a aplicação tópica de cataplasmas, pois ao aplicar a carne do segundo hospedeiro na pele, olhos ou feridas como prática curativa, a larva de *Spirometra* sp., ativada pelo calor, entraria no tecido humano e poderia causar infecção Essa prática cultural tem registro no continente Asiático e algumas áreas da América do Sul, e embora incomum,

não deve ser descartada (GOMES *et al.*, 1996; ROBERTS; JANOVY; NADLER, 2013; KUCHTA *et al.*, 2015; LOTFY, 2020).

Desse ou daquele modo, advém o potencial desenvolvimento da esparganose, que, dependendo da localização do espargana (*sparganum*), nódulo palpável, doloroso, gorduroso, crescente, irregular, com consistência similar à borracha e aparência semelhante a um lipoma, resultante da invasão de tecidos e órgãos, pode trazer implicações à saúde, em menor ou maior grau (GOMES *et al.*, 1996; KA; HO, 2011).

Em 1941, Mueller e Coulston em realização de infecções experimentais, registraram que esse nódulo, formado como resposta imunológica do hospedeiro, cresce em média dois centímetros ao mês, com taxa de migração observada de quatro a cinco centímetros de mobilidade ao mês, podendo assim se desenvolver no tecido subcutâneo, músculos ou mais profundamente em órgãos, tais como: cérebro, coluna, bexiga, rins, pulmões, pleura, olhos, fígado, coração, saco escrotal, tecido mamário, peritônio ou cavidade abdominal (GOMES *et al.*, 1996; REY, 2008; HA; OH, 2011; KOO *et al.*, 2011; ROBERTS; JANOVY; NADLER., 2013; KUCHTA *et al.*, 2015). À medida que o verme se movimenta, provocando prurido, há o desaparecimento e reaparecimento do espargano, que pode viver até 20 anos em hospedeiros humanos. A sintomatologia causada pela presença e crescimento do espargano, assim como seu prognóstico variam conforme sua localização, existindo também casos de esparganose disseminada ou proliferativa, com ramificações e brotações contínuas dos nódulos, podendo levar à morte como desfecho (NOYA *et al.*, 1992 apud KUTCHA *et al.*, 2015; GOMES *et al.*,1996; LEE; MYUNG; PARK, 2010; HA, HO, 2011; ROBERTS; JANOVY JR; NADLER, 2013a).

A figura 9, demonstra a retirada manual e cuidadosa de um parasito (com 5,5 cm de comprimento) em caso de esparganose ocular no Brasil, com tecido conjuntivo ocular em fase inflamatória intensa, edema periorbital e epífora, que se não tratada, pode acarretar cegueira.

Figura 9- Retirada manual de uma larva de *Spirometra* sp. em caso de esparganose ocular no Brasil



Fonte: Mentz et al., 2011.

Considerando o ciclo de vida do parasito podemos deduzir que existem três maneiras supracitadas pelas quais os humanos remotos que habitavam o Sítio estudado podem ter sido infectados por *Spirometra* sp. Na Pedra do Tubarão e consequentemente no Cemitério do Caboclo, fatores ambientais e culturais indicam que os membros desta população podem possivelmente ter sido infectados por este parasito e desta forma terem potencialmente desenvolvido esparganose como patologia.

A forma ideal de identificar esta infecção, indiscutivelmente, seria deparar-se com nódulo preservado em tecido mumificado e realizar análise histológica, como já ocorrido com outros estudos que encontraram diversos parasitos em tecido mumificado, tais como ancilostomídeos retirados de um corpo mumificado em Minas Gerais de 2.500 anos (FERREIRA; ARAÚJO; CONFALONIERI, 1983) ou *Leishmania* sp. diagnosticada em tecido ósseo e da cavidade abdominal de múmia no mesmo estado (NOVO, 2015).

No entanto, no presente estudo, a confirmação histológica não se faz possível, devido às condições de preservação as quais o material arqueológico foi encontrado (juntamente com ossos, artefatos e outros elementos dispersos e distribuído de forma homogênea, seca, completamente desarticulados e muitas vezes queimados), além das condições climáticas, que culminaram com a não preservação de tecido mumificado. Todavia, a presença do parasito no mesmo ambiente utilizado por esta população, bem como os possíveis hábitos evidenciados pelo material arqueológico encontrado no local de habitação e enterro, são elementos que sugerem que os indivíduos desta população podem ter sido infectados com esta zoonose. E esta, pode ter impactado em sua saúde e qualidade de vida, em menor ou maior grau.

Complementarmente às deduções acima, de prováveis formas de infecção do homem, a presença de uma fonte hídrica circundando o local de habitação desse grupo, como afirmado por Jatobá e Lins (2008), e de acordo com descrição dessa região do Vale do Catimbaú em Amaral (2007), como área úmida, com índices pluviométricos superiores a 700mm, fontes de água intermitentes e algumas perenes, solos profundos, vegetação florestal, fonte essa onde o primeiro hospedeiro intermediário poderia viver (copépodes) e ser ingerido acidentalmente no consumo dessa água, pode auxiliar a explanar a positividade para esse parasito (REGO; SCHAFFER, 1992).

Atualmente, essa região dos municípios Buíque, Pedra e Venturosa, região onde se localiza o sítio estudado, é banhada pela Bacia Hidrográfica do Rio Ipanema (AMARAL, 2007). Além disso, o potencial reprodutivo de diversos parasitos, dentre eles o *Spirometra* é elevado, com estimativas de que algumas espécies podem produzir até um milhão de ovos por dia. Isso sugere que um pequeno número de hospedeiros definitivos poderia contaminar densamente fontes de água com ovos (SCHOLZ *et al.*, 2009). E ainda, levando em consideração a constatação da presença de restos ósseos da fauna (dentre eles: ordem Artiodactyla, Edentata, Rodentia, Squamata e pássaros) no sítio arqueológico de origem das amostras, sugerindo que possam ter servido de alimentos à essa população, o que poderia ter-lhes causado algum tipo de infecção pelo parasito alvo desse estudo.

Sobre o consumo de água potencialmente contaminada com o primeiro hospedeiro, contemporaneamente, esse resultado se repete. Um exemplo consta na revisão e relato de caso de esparganose mamária na Coreia do Sul, realizado por Koo *et al.* (2011), onde 35 mulheres tiveram uma ou mais larvas retiradas cirurgicamente de seu tecido mamário. Nessa revisão, com exceção de uma paciente que consumia frequentemente vinho com cobra ou rã conservada no frasco, a história mais comum foi o consumo de água sem tratamento e peixes crus desta mesma fonte hídrica.

Em consonância com o relato de consumo de água "impura" (riachos e lagos) como linha de transmissão para o agente etiológico, dois casos de esparganose pleural em homens adultos também foram relatados em Chung *et al.* (2012) num hospital Sul-Coreano, bem como o mesmo consumo prolongado de água de rios e lagos foi descrito em um relato de caso raro de esparganose cerebral diagnosticada em um boliviano no estudo de Lo Presti *et al.*, realizado na Espanha em 2015.

A respeito da finalidade dietética como via de contaminação, baseado em achados zooarqueológicos, Luft (1990) afirma que grupos que utilizavam da Pedra do Tubarão,

empregaram materiais líticos feitos principalmente de quartzo para fabricar artefatos, como facas usadas em suas atividades diárias, e que a subsistência dos grupos dos sítios do agreste nordestino incluía hábitos alimentares não convencionais, como a ingestão de animais não cozidos, verificada pela descoberta de escamas e pelos em amostras estudadas, a exemplo do consumo de lagartos nos sítios do Piauí e Pernambuco, baseando-se principalmente no consumo de pequenos mamíferos, répteis, anfíbios e pássaros, sendo denominados de "comedores de microfauna" (OLIVEIRA, 2001; SIANTO *et al.*, 2012b).

A ideia sobre contaminação pela dieta também pode ser ratificada na tese de Santos (2014), onde por meio dos achados no estudo de paleodieta no Sítio Furna do Estrago, pertencente ao mesmo complexo arqueológico do presente estudo, concluiu que a alimentação desse grupo humano se baseava em vegetais, tubérculos, mas também encontrou pequenos ossos inteiros sem sinais de queima. Achado que remete consequentemente aos resultados obtidos no ensaio de Sianto *et al.* (2012b), que concluiu que a população do Furna do Estrago consumia alimentos crus, como pequenos répteis inteiros, ou carne mal passada de animais, e dessa forma, o homem caçador-coletor pré-colombiano foi exposto à zoonoses transmitidas por seus hábitos alimentares.

Observando fatores culturais e ambientais que contribuem para a presença dos parasitos numa determinada população, a subsequente manutenção do ciclo de vida deste e a possível sustentação de infecções e/ou doenças que poderiam culminar em consequências na saúde e na vida dessas pessoas ao longo do tempo, podemos relacionar patoecologicamente a presença desse parasito identificado, com o conceito de "nidus" criado por Pavlovsky ainda na década de 60, que determina que os parasitos, bem como todas as espécies, ocorrem em localidades específicas que apresentam condições favoráveis para tal, ou seja um habitat natural de determinada infecção (PAVLOVSKY, 1966; REINHARD, 1974; REINHARD; ARAÚJO, 2012; SLEPCHENKO; REINHARD, 2018).

Assim, de forma correlacional, a presença do grupo de segundos hospedeiros no mesmo local de habitação do grupo populacional do Sítio, indicaria coabitação desse grupo humano com felinos.

De fato, existem evidências de intensa ocupação humana na extensa área do Parque Nacional da Serra do Catimbaú – PB, com seus 42 sítios arqueológicos registrados pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN) até 2014 (SOLARI *et al.*, 2016). Com o entendimento que se tratava de grupos humanos de caçadores-coletores e ceramistas durante o período Holoceno, com distintas datações, entre 6.000 e 2.000 anos AP (AGUIAR, 1986;

ALBUQUERQUE; LUCENA. 1991; SILVA; MELO, 2011), abonando assim, informações sobre remotas ocupações desse parque, principalmente nas encostas de grandes formações geológicas que formavam abrigos de arenito aperfeiçoados pelo vento e erosão na estrutura sedimentar (JATOBÁ e LINS, 2008; SOLARI *et al.*, 2016).

Segundo descrição de Luft (1990), diversos sítios de tradição agreste do Pernambuco, incluindo o sítio Pedra do Tubarão, fora identificado como sítio que sugere algum nível de habitação, com o achado de grandes fogueiras delimitadas por pedras, material lítico, fragmentos de hematita usados para pinturas, materiais cerâmicos utilitários, ornamentos, restos de esqueletos de fauna, bem como alguns ossos humanos quebrados. Os elementos citados arqueologicamente configuram-se como indícios da transição nomadismo/sedentarismo, concordando assim com Lima (1985) apud Teixeira-Santos (2014) e Silva e Rodrigues-Carvalho (2006) que apontam que nessa fase, os grupos que se formaram na povoação das américas, permaneciam mais tempo em um determinado local, mudaram paulatinamente de hábitos e começaram as práticas de domesticação, tanto de animal como de alguns tipos de vegetais, como tubérculos, por exemplo.

Destaca-se ainda que, historicamente, o risco de altas parasitemias zoonóticas já existiam no nomadismo, contudo, foram maximizadas na transição para o sedentarismo (REINHARD, 1991; BARNES *et al.*, 2017).

Também apoiando a transição para o sedentarismo, os resultados da tese de Santos (2014), realizada com coprólitos do Sítio Furna do Estrago, mesmo complexo arqueológico do Pedra do Tubarão, a 100km, fomentados nas características paleodemográficas da região, no padrão de desgaste dentário encontrado e no tipo de resíduo alimentar apresentado, concluiu que, além da caça e coleta de frutos silvestres, raízes e talos, este grupo disfrutava de um momento inicial de transição, com introdução das práticas de horticultura, podendo estar associada à ocupação mais prolongada e densa da área. Santos destaca ainda, que num raio de pelo menos 100 km, os recursos naturais seriam idênticos e os indivíduos estariam submetidos às mesmas circunstâncias características do semiárido nordestino, tornando mais robusta a hipótese de uma vida inicialmente sedentária. Vale ressaltar, que segundo a mesma autora, os grupos do PARNA Serra do Catimbaú sobreviviam nesse espaço de forma semelhante, porque se tratava de um "refúgio" dentro do semiárido nordestino. Esse novo modo de vida trouxe desafios nunca dantes encarados, incluindo enfermidades advindas de novas interações parasito-hospedeiro-ambiente (REINHARD, 1991).

Dentre os sítios arqueológicos identificados no estado de Pernambuco, certamente até o momento, o sítio arqueológico vizinho, Furna do Estrago, foi o mais estudado em diversos aspectos. Nele, uma grande variedade de parasitos humanos e animais já foram encontrados desde a principal escavação ocorrida em 1989. Posteriormente, em 1994, coprólitos do mesmo PARNA foram estudados por Duarte. Nesse estudo, os coprólitos humanos foram negativos na busca de parasitos, mas nos de origem animal (Felidae, Myrmecophagidae, Cervidae, Tayassuidae, Kerodon rupestris, Caviidae e Thrichomys apereoides) foram identificados diversos relevante que Duarte diagnosticou parasitos, sendo também de Spirometra sp. nos coprólitos de Felidae (Duarte, 1994). Essa detecção, entre outras, corrobora com o achado do estudo e reforça o potencial zoonótico da região dos sítios de tradição do Agreste, onde está inserido o sítio estudado.

Em estudos paleoparasitológicos, a detecção de parasitos de animais em material antigo de origem humana, é achado já documentado. O estudo de Sianto em 2009 por exemplo, realizado com amostras de coprólitos humanos de sítios arqueológicos do PARNA da Serra da Capivara-PI, mostrou que além dos helmintos intestinais frequentemente diagnosticados em grupos humanos remotos, esses grupos também estavam suscetíveis e infectados por helmintos exclusivos de animais, capazes de infectar, transitoriamente ou não, o hospedeiro humano.

Fomentando o pensamento de que o grupo humano da Pedra do Tubarão poderia estar infectado com parasito primordialmente animal e potencialmente específico de origem felina, tal qual esse estudo, Sianto e colaboradores (2009), com amostras datadas com até 30.000 anos AP, identificaram *Spirometra* sp. em coprólitos de felinos, no PARNA da Serra da Capivara, também localizado no Nordeste Brasileiro. Corroborando, em anos ulteriores, novamente, Sianto *et al.* em outros estudos (2012a, 2012b, 2014, 2016) também identificaram outros parasitos de animais com ou sem potencial zoonótico, já debatendo nesses trabalhos sua presença como apontador de risco de infecção humana, chamando atenção para a real perspectiva de que tanto *Spirometra* sp., quanto outros parasitos já circulavam e se mantinham (em contato direto ou indireto) entre grupos humanos pré-históricos.

Os autores concordam que quanto maior o número de infecções parasitárias do passado detectadas e novas inferências sobre infecções zoonóticas forem realizadas, mais se amplifica o conhecimento do processo saúde/doença humana, principalmente em seus prismas biológicos e comportamentais. Une-se a isso, o benefício de entender melhor a evolução conjunta e concomitante dos parasitos e hospedeiros de animais e do homem ao longo do tempo, com reflexos na atualidade. Sobre isso, complementa Ferreira *et al.* (2011, p. 335).

Identificar as zoonoses que acometiam povos ancestrais, entendendo seus mecanismos de transmissão e os fatores que afetam essa dinâmica, sejam eles biogeográficos, ecológicos, culturais, históricos ou sociais, pode ajudar a traçar modelos de previsibilidade que ajudem a controlar as doenças parasitárias logo após seu surgimento, ou preveni-las antes mesmo que se tornem problemas de saúde pública.

Contemporaneamente, apesar dos avanços globais nos padrões de segurança alimentar, os humanos continuam em risco pela exposição à doenças transmitidas pela água, alimentos e zoonoses (NEWELL *et al.*, 2010). Nessa teia de permanência de parasitoses entre os homens ao longo da história, Barnes *et al.* (2017) reitera que as zoonoses, com destaque para os parasitos entéricos são onipresentes e continuam sendo uma ameaça à saúde pública, devido a nossa estreita e histórica relação com animais domésticos e selvagens, unida a fatores que permanecem atualmente, como o uso de água inadequada, falta de saneamento, precárias práticas de higiene e/ou a dieta.

Tecendo um *link* entre o passado e o presente, é importante relatar a constância da circulação na atualidade do *Spirometra* sp em felinos e outros mamíferos. Diversos estudos no Brasil e fora dele demostram a presença de ovos deste parasito através de técnicas coproparasitológicas, como o de Marques *et al.* (2019), que relataram positividade em gatos domésticos e um gato maracajá em Porto Alegre, RS; Dall´Agnol *et al.* (2010) e Ferraz *et al.* (2020) que também diagnosticaram esse parasito em gatos urbanos no Sul do Brasil; Dib *et al.* (2019) em amostras de fezes de mamíferos silvestres no Rio de Janeiro-Brasil; Aranda *et al.* (2013) com registro positivo em felinos silvestres em zoológico no Peru.

Quando à esparganose humana como desfecho, o primeiro caso em um homem chinês, foi descrito em 1882. No entanto, o primeiro caso humano na literatura com características específicas já havia sido relatado já em 1596 (COBBOLD *et al.*, 1883; KUTCHA *et al.*, 2015). Embora com maior frequência de registros na Ásia, principalmente na China, Tailândia e Coreia do Sul, também foram relatados casos nos Estados Unidos, onde a maioria dos pacientes são homens da costa leste e onde cerca de 70 casos de todos os tipos de esparganose foram diagnosticados (LI *et al.*, 2011; ANANTAPHRUTI *et al.*, 2011; KUCHTA *et al.*, 2015).

Alguns casos de esparganose também foram relatados na Itália e França (PAMPIGLIONE *et al.*, 2003) e sua ocorrência também vem sendo registrada na África, com 30 casos registrados até a década de 80 neste continente, principalmente nas regiões costeiras. Na Austrália, quatro casos autóctones de esparganose subcutânea foram relatados, além de vários países da América do Sul (Argentina, Colômbia, Uruguai, Paraguai, Venezuela, Guiana, Equador e Brasil), com relatos de esparganose proliferativa, sua forma mais grave (FRÓES,

1967 apud GOMES *et al.*, 1996; HOLODNIY *et al.*, 1991 apud GOMES *et al.*, 1996 KRON *et al.*, 1991; HUGHES; BIGGS, 2002; CHUNG *et al.*, 2012).

Globalmente, Qiu e Qiu (2009) relataram pelo menos 1.400 casos de esparganose humana registrados, mas os autores destacaram ainda naquele ano, que esse número é deveras subjugado, e na maioria das vezes não ocorre o registro correto e real por dificuldades diagnósticas. Nos anos mais recentes podemos citar: 37 casos raros de esparganose em lesões cutâneas abertas no Sudão do Sul e Etiópia, diagnosticados e tratados de 2012 a 2015 (EBERHARD *et al.*, 2015); esparganose ocular na Tailândia (WIWANITKIT, 2014); em Assam (India) (NATH; GOGOI, 2015) e na China (LI; HU; YANG, 2019). Assim, a esparganose deve ser considerada como uma infecção parasitária humana emergente, porém, apesar da importância considerável, está entre as mais negligenciadas parasitoses humanas (LOTFY, 2020).

No Brasil, em 1996, Gomes *et al.*, relataram caso no interior do estado São Paulo, uma adolescente (17 anos) foi atendida em 1994 na urgência hospitalar com fortes dores, náuseas, vômitos, febre, fadiga, anemia e um abdome doloroso na região periumbilical. Foi constatada a presença de uma tumoração próximo à cicatriz umbilical e um parasito, branco, sem vida, com 40 centímetros de comprimento, foi retirado com uma pinça. A paciente foi submetida à laparotomia exploratória, sendo o diagnóstico de esparganose diretamente relacionado ao consumo de água de rio. Outro caso nos últimos anos se trata de esparganose ocular numa paciente jovem de Santa Catarina-Brasil relatado por Mentz *et al.* em 2011 (Figura 9).

Os autores concordam que são necessárias mais realizações de inventários de fauna parasitológica em mamíferos, tanto de espécimes domésticas quanto de silvestres e que, este gênero de parasito tem sua prevalência subestimada nestas espécies. Um exemplo recente da subatenção dedicada à esparganose animal como potencial prejuízo à saúde humana, ocorreu em 2018 quando, Kołodziej-Sobocińska e Miniuk diagnosticaram esparganose múltiplas em animais silvestre na Polônia, animais estes que são caçados como esporte e têm sua carne consumida com relativa frequência no país, bem como em outros países no mundo, como os javalis. Concordam também, a exemplo de Sianto *et al.* (2014), que de forma geral, no intuito de atender às demandas relacionadas à pesquisa em grupos humanos, a busca por parasitos de origem animal em material remoto é deixada em segundo plano. Nesse sentido, o estudo de coprólitos de felinos ainda é escasso.

Em relação à origem zoológica das amostras registrada como coprólitos e pontuadamente quanto à amostra positiva para *Spirometra* sp, nos registros de escavação sob

tutela da UFPE, consta no livro de registros da escavação arqueológica realizada em 1989, como de origem animal, porém dois pontos devem ser analisados: 1- Os coprólitos estudados no presente trabalho foram encontrados embaralhados entre os restos de esqueletos e outros materiais recuperados do cemitério anexo ao paredão abrigo, sendo o Cemitério do Cabloco considerado área de ritual de enterramento do sítio arqueológico estudado. Segundo Luft (1990), ambos os sítios arqueológicos são resultado da mesma ocupação, que utilizava a Pedra do Tubarão como habitação e Cemitério do Caboclo como cemitério (área de enterramento). Ponto 2- o material chegou ao Laboratório de Paleoparasitologia Eduardo Marques (ENSP/FIOCRUZ) para estudo em sacos plásticos lacrados e devidamente identificados, no entanto, sem tamanho e forma original definidos (fragmentos e farelo). Dessa forma, não foi possível realizar a análise visual (morfométrica) das fezes tal qual descreve Chame (2003).

Em contraponto aos elementos supracitados, ao relembrar que a aplicação da patoecologia é essencial em todos os contextos, principalmente em locais onde a preservação da matéria fecal é comprometida devido à interferência de inúmeros fatores, especialmente os tafonômicos, como pode ter ocorrido com as amostras deste estudo.

A ausência de identificação morfométrica da amostra importa, mas, não deve ofuscar a lucidez das inferências patoecológicas do estudo, ademais o achado de 70 ovos de *Spirometra* sp. numa única amostra, auxilia no entendimento da dinâmica de infecção no contexto do sítio. Reiterando esse pensamento, Souza (2013) afirmou, num estudo que envolveu 67 amostras de coprólitos num sítio do PARNA da Serra da Capivara-PI, que por sinal pertence a mesma região do Brasil, tem clima tropical árido, umidade e características do solo semelhantes ao sítio estudado, em algumas ocasiões, processos tafonômicos, armazenamento ou mesmo transporte inadequado dos coprólitos podem comprometer a forma original do material, impossibilitando a identificação zoológica baseados na morfologia e morfometria.

Ainda sobre o estudo de Souza (2013), autora afirma que nesses casos, os resultados obtidos dos estudos paleoparasitológicos nos coprólitos são fundamentais para a identificação de sua origem, e prossegue citando que "a identificação zoológica se torna ainda mais inquestionável quando encontramos formas evolutivas de parasitos específicos de uma determinada espécie de animal" (p.10), como ocorrido no resultado do presente estudo. Em seu estudo e também no de Duarte (1994), realizado com amostras de um sítio localizado no estado do Pernambuco, mesmo complexo arqueológico da Pedra do Tubarão, Duarte identificou a presença de pelos e fragmentos ósseos em coprólitos de Felidae, acrescido aos achados de ovos

de Spirometra sp., mesmo parasito identificado no estudo e de outros parasitos específicos de animais, auxiliando assim na confirmação da origem zoológica dessa família.

12.2 SUBSÍDIOS PARA A PALEOEPIDEMIOLOGIA: COMPARANDO MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE OVOS POR GRAMA (OPG)

Com vistas a fornecer subsídios para a Paleoepidemiologia e suas inferências, prosseguiu-se à realização da etapa experimental de quantificação de ovos (OPG). Na aplicação da análise de variância (ANOVA), as hipóteses erguidas de que "todos os três métodos empregados (americano, coreano e inglês) para a quantificação de OPG conseguiriam estimar quantidades médias de ovos iguais ao parâmetro considerado", ou seja, a hipótese inicial (H0), bem como a hipótese de que "pelo menos uma das médias de OPG das técnicas estimaria estatisticamente OPG igual à média da técnica de referência" foram rejeitadas.

Em suma, comparando as múltiplas médias de OPG, com nível de 0,05 de significância, nenhuma das técnicas replicadas neste estudo conseguiu se igualar estatisticamente ao parâmetro aplicado em fase precedente, ou seja, ao coprólito experimental controle (Técnica de Stoll), conforme a saída do Teste ANOVA representado na tabela 2.

Quadrados Soma dos GL^* Fontes de Variação Quadrados Médios Tratamentos (Colunas) 3 55,4 e+04 18,5 e+04

Tabela 2- Teste ANOVA: Comparação aos pares das metodologias reproduzidas.

16 46,2 e+03 28,9 e+02 Erro F (tratamentos) = 63,94

Colunas: B (metodologia controle - Método Stoll), C (metodologia sul-coreana), D (metodologia americana) e E (metodologia inglesa).

< 0,0001

p-valor (tratamentos) =

Na sequência da análise estatística, foram aplicados dois pós-laboratoriais. O primeiro elencado como apropriado foi o Teste de *Dunnett*, escolhido por haver um método de contagem de referência. Sendo ele capaz de apontar qual seria o método ou técnica significativamente diferente de quem, além de qual ou quais técnicas seria(m) diferente(s) da referência. Desse modo, o teste de Dunnet evidenciou, ao nivel de significância 0,05, que a técnica de quantificação americana (coluna D), bem como a sul-coreana (coluna C) mais se aproximaram da proporção de OPG considerada (técnica controle-coluna B), numérica e estatisticamente, conforme ilustrado na tabela 3 abaixo. Sendo, a americana em proporção superior, superestimando a quantidade de OPG da amostra e a sul-coreana, de forma contrária, subestimando.

Tabela 3 - Pós-teste de *Dunnet:* significância estatística dos métodos de quantificação de OPG em relação ao método controle.

Dunnet	Diferença	#SE	**Q	Valor Crítico	Conclusão
Colunas B x C	214.8000	33.9804	6.3213	2.0600	p < 0,05
Colunas B x D	193.8000	33.9804	5.7033	2.0600	p < 0,05
Colunas B x E	197.4000	33.9804	5.8092	2.0600	p > 0,05
Colunas C x D	408.6000	31.4293	13.0006	1.7800	p < 0,05
Colunas C x E	17.4000	31.4293	0.5536	1.7800	p > 0,05
Colunas D e E	391.2000	38.4635	10.1707		p > 0,05

#SE – Soma dos erros; **Q – Quadrados; p – nível de significância

Na sequência, de forma complementar, para análise comparativa das repetições de leitura e contagem de ovos de *A. lumbricoides* na amostra segundo cada protocolo adotado, foi aplicado o pós-teste de *Tukey* (interações entre as linhas **I, II, III, IV, V**). Nessa análise, aceitase H0: as quantidades médias de ovos encontrados nas repetições através dos métodos empregados são estatisticamente iguais, ao nível de significância de 0,05. Essa constatação remete a anulação do chamado "viés do observador", ou seja, a qualidade e eficiência da leitura fatigante das lâminas durante a execução dos protocolos laboratoriais do processo de contagem dos ovos um-a-um, em cinco repetições cada, para posterior aplicação dos algoritmos e estimação do número de OPG das três técnicas elencadas no estudo, manteve-se no mesmo padrão, do início ao fim, como demonstrado no quadro 3.

Quadro 3 - Pós-teste de *Tukey*: diferença das médias obtidas das contagens sucessivas de ovos por leitura microscópica

FONTES DE VARIAÇÃO (I x II)	GL	SQ	QM	
Tratamentos	1	180.500	180.500	
Erro	6	24.0 e+04	39.9 e+03	
F =	0.0045			
p-valor		0,9472		
FONTES DE VARIAÇÃO (I x III)	GL	SQ	QM	
Tratamentos	1	136.125	136.125	
Erro	6	24.5 e+04	40.8 e+03	
F =	0.0033			
p-valor		0,9548		
FONTES DE VARIAÇÃO (I x IV)	GL	SQ	QM	
Tratamentos	1	30.0 e+02	30.0 e+02	
Erro	6	32.2 e+04	53.7 e+03	
F =	0.0560			
p-valor		0,8145		
FONTES DE VARIAÇÃO (I x V)	GL	SQ	QM	
Tratamentos	1	36.125	36.125	
Erro	6	23.1 e+04	38.4 e+03	
F =	0.0009			
p-valor		0,9752		
FONTES DE VARIAÇÃO (II x III)	GL	SQ	QM	
Tratamentos	1	630.125	630.125	
Erro	6	18.9 e+04	31.6 e+03	
F =	0.0200			
p-valor		0,8870		
FONTES DE VARIAÇÃO (II x IV)	GL	SQ	QM	
Tratamentos	1	46.6 e+02	46.6 e+02	
Erro	6	26.6 e+04	44.4 e+03	
F =	0.1048			
p-valor		0,7536		
FONTES DE VARIAÇÃO (II x V)	GL	SQ	QM	
Tratamentos	1	378.125	378.125	
Erro	6	17.5 e+04	29.2 e+03	
F =	0.0129			
p-valor		0,9092		
FONTES DE VARIAÇÃO (III x IV)	GL	SQ	QM	
Tratamentos	1	18.6 e+02	18.6 e+02	

Erro	6	27.2 e+04	45.3 e+03
F=	0.0411		
(p) =	0,8395		
FONTES DE VARIAÇÃO (III x V)	GL	SQ	QM
Tratamentos	1	32.000	32.000
Erro	6	18.1 e+04	30.1 e+03
F =	0.0011		
p-valor	0,9738		
FONTES DE VARIAÇÃO (IV x V)	GL	SQ	QM
Tratamentos	1	23.8 e+02	23.8 e+02
Erro	6	25.8 e+04	42.9 e+03
F =	0.0554		
p-valor		0.8153	•

e+ - variação do erro; F- variação entre as médias amostrais

12.3 SIMILITUDES E ESPECIFICIDADES DAS METODOLOGIAS APLICADAS

A comparabilidade dos percursos metodológicos aplicados na quantificação de OPG, correspondentes a cada metodologia elencada, ratificando que estas foram escolhidas considerando suas representatividades no cenário da Paleoparasitologia internacional e adaptações de técnicas já consolidadas, é de sumo interesse à comunidade científica da área. Dessa maneira, poder realizar cada metodologia em uma mesma amostra, com a estimativa de quantificação com o mesmo parasito e ter um parâmetro anterior fez-se mister.

A escolha de aplicação do método Stoll (1923) modificado por DeCarli (2007) como parâmetro aplicado nas fezes antes da desidratação extrema se deve à robustez, simplicidade e tradicionalidade do método, corroborando com Dufour e Le Bailly (2013) na escolha controle para quantificação no estudo, onde o objetivo era testar comparativamente a ação de diferentes ácidos e combinações de base utilizados nas técnicas de processamento de amostras e extração de ovos de parasitos em sedimentos arqueológicos em relação à metodologia tradicional aplicada na palinologia realizadas na França. No quadro 4 abaixo estão registradas as contagens, médias e quantificação controle do método.

Quadro 4- Quantificação-controle. Método Stoll (1923) modificado por DeCarli (2007). Registro da quantificação de OPG realizada no *pool* de fezes recentes.

Quantificação controle - Técnica STOLL				
Média parcial das repetições contagem de OPL	Soma das médias	Ajuste da fórmula (X 100 x 3 (pastosa diarreica)	Média final dos valores de OPG obtidos:	
114				
128				
134	487	146.100		
111	407	146.100		
113				
178				
222				
97	663	100 000	222.000	
166	663	198.900	222.900	
163				
258				
328				
237	1.070	222 700		
256	1.079	323.700		
235				

^{*} OPL - ovos por lâmina; OPG - ovos por grama

Vale salientar que todas as repetições metodológicas de quantificação foram realizadas no mesmo laboratório, utilizando o mesmo equipamento para a pipetagem das amostras e o mesmo microscópio (LEICA-750P) para a análise das lâminas e contagem dos ovos, sendo aplicado um método de cada vez e as cinco repetições de cada técnica realizadas em sequência, conforme resumido no quadro 5.

Quadro 5- Resultado numérico resumido das quantificações de OPG nas metodologias testadas.

Metodologias	Valor médio de	Quantificações	Média da
aplicadas	ovos contados	calculadas	estimativa de OPG
		477.500	
		377.750	
Americana	1.666	324.250	416.400
		530.000	
		372.500	
		6.966	
		3.326	
Coreana	7.916	7.146	7.916
		9.332	
		12.814	
Inglesa		8.545	
	a 5.009	21.525	
		16.140	5.009
		31.000	
		48.020	

12.4 METODOLOGIA APLICADA NOS ESTADOS UNIDOS

Pathoecology Laboratory, School of Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln, EUA (REINHARD *et al.*, 1986; 1986a)

Sem dúvida, o ponto que mais diferencia a metodologia americana de quantificação das demais é a adição de esporos de *Lycopodium* à amostra processada como um elemento de proporcionalidade na etapa da contagem de ovos, e especificamente neste estudo, com a utilização de ovos de *Ascaris lumbricoides*. Desse modo, a determinação de OPG se baseia na adição de uma quantidade conhecida de esporos de plantas exóticas (aproximadamente 12.500 esporos em cada tablete), conforme o volume ou peso do coprólito analisado (MORROW, 2016; PEARSALL, 2016).

Exemplificando estudos com adição de *Lycopodium* como método de escolha para quantificação de OPG, Racz *et al.* (2015) calcularam um número elevado de OPG para 12 coprólitos recuperados do abdome de três múmias originárias da Bélgica, datadas ±1.000 D.C (depois de Cristo), sendo em uma delas identificado um volume alusivo de bloqueio intestinal, sugerido pelos autores como sinergia de alta carga parasitária e dieta. Os resultados desse mesmo estudo demonstraram alta parasitemia de *Trichuris trichiura* (1.577.679 OPG) e *Ascaris*

lumbricoides (202.350 OPG), e assim concluíram que isso representava uma carga parasitária humanamente intolerável e que, possivelmente, cooperou para a morte do indivíduo, acrescentando ainda, que as análises estatísticas revelaram correlação positiva entre os parasitos diagnosticados.

Mais recentemente, Camacho e Reinhard (2020) constataram altas prevalências de parasitoses, revelando um novo panorama paleoparasitológico da infecção por *Enterobius vermiculares* em populações de Pueblo Ancestral (populações ancestrais da região do Planalto Colorado do sudoeste americano), num estudo realizado em coprólitos humanos recuperados de latrinas de três sítios arqueológicos, de diferentes períodos, onde foram encontradas díspares prevalências para *E. vermiculares* entre os sítios. Paleoepidemiologicamente, concluíram neste estudo, que a mais alta prevalência encontrada (72,7%), correlacionava-se com o estilo de habitação existente ao longo do tempo, sendo este percentual até maior que números médios da atualidade.

No presente estudo o percurso metodológico americano foi composto pela sequência dos métodos Callen – *Lycopodium*. Sequência essa recomendada por Camacho *et al.* (2018), quando concluíram que a recuperação de parasitos em múmias e seus coprólitos possibilitam a realização de uma abordagem epidemiológica, sendo aquela combinação de métodos a adaptação mais bem sucedida, diferentemente do que pode ser observado com a utilização da metodologia de Lutz (1919).

No tangente ao valor mínimo de esporos de *Lycopodium* contabilizados como referencial proporcional para quantificação de ovos de *A. lumbricoides* no presente experimento, a escolha de contabilizar os ovos até o número de 50 esporos foi fomentada no fato de que se trata de um estudo experimental que envolveu um *pool* de fezes recentes, onde a quantidade de ovos era conhecidamente ampla. Desse modo, a possibilidade dos ovos presentes na amostra não serem quantificados seguramente, devido a um número baixo de esporos, era mínima. Essa escolha numérica foi ratificada também na saída da aplicação do pós-teste estatístico de *Tukey* (quadro 4), onde as quantidades médias de ovos nas cinco repetições da técnica americana foram, com nível de significância 0,05, estatisticamente iguais, demonstrando assim boa sensibilidade diagnóstica ou seja, que a distribuição de esporos/ovos nas lâminas seguiu um padrão de proporcionalidade.

De forma complementar, ainda sobre o número mínimo de esporos a serem contabilizados como ideal e/ou adequado, apresenta-se a seguir exemplificações de estudos que

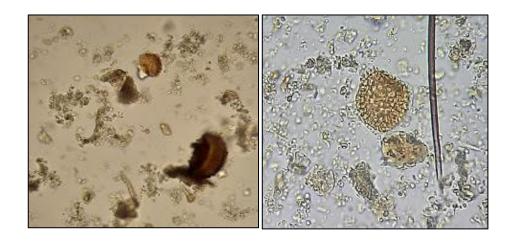
também elencaram um número específico de esporos que variou de acordo com seus objetivos, aspectos tafonômicos, percurso metodológico escolhido e o tipo de material a ser analisado.

Assim, no recente "Manual para a análise de micropartículas em amostras arqueológicas", no capítulo escrito por Camacho, Perri e Reinhard (2020) são descritas técnicas laboratoriais utilizadas nas últimas décadas e suas adaptações para o trabalho com amostras antigas, onde os autores delinearam um mínimo de 25 esporos de *Lycopodium* contabilizados para cada amostra de sedimento analisada. Este número mínimo de 25 esporos também foi aplicado na metodologia de Reinhard *et al.* (2008), onde foram diagnosticados e quantificados ovos de *T.trichiura*, *A. lubricoides* e o raro parasita do fígado chinês (*Clonorchis sinensis*), em latrinas datadas entre 1880 e 1930, no estado americano da Califórnia. Valor adequado e suficiente de esporos, segundo os autores, para a quantificação de ovos de parasitos no contexto de latrinas.

Esse mesmo valor mínimo (25) de esporos também foi aplicado na metodologia de Kumm *et at.* (2010) onde identificaram 154 ovos de *T. trichiura*, quantificando 34.529 OPG em amostras viscerais (coprólitos) de múmia masculina adulta de entidade religiosa italiana (Sicília). Em sua tese Camacho (2018) resume uma série de estudos com coprólitos realizados em grupos populacionais da cultura *Pueblo*, com ótimo nível de preservação dos sítios, situados primordialmente na América do Norte. Nesses, foi estabelecida a quantificação com contagem mínima de ovos de parasitos até que atingisse a proporção também de 25 esporos de *Lycopodium* (REINHARD, 1992, REINHARD; ARAÚJO; MORROW, 2016; REINHARD *et al.*, 2012).

As imagens a seguir, foram obtidas no momento da contagem dos ovos da técnica (lâmina 4), e demonstram o par ovo/esporo de *Lycopodium* e à direita, um esporo ampliado 100x.

Figuras 10 - Par ovo/esporo de *Lycopodium* e à direita (40x), um esporo ampliado em ocular 100x.



Fonte: COSTA, A. C., 2020

12.5 METODOLOGIA APLICADA NA COREIA DO SUL

Department of Anatomy, Seoul National University College of Medicine, Korea (Shin et al. 2009).

Inicialmente, enfatizam-se três pontos específicos da técnica de quantificação sulcoreana, a seguir: 1- O fato de não haver refrigeração da amostra durante os sete dias da etapa metodológica de reidratação; 2- Embora o precipitado tenha, como passo do experimento, recebido formalina tamponada neutra a 10% (solução de Railliet & Henry), no intuito de evitar a proliferação fúngica no tubo plástico com tampa de rosca, a amostra desenvolveu uma camada espessa e escura, indicativo de formação fúngica na superfície (sobrenadante).

Levando em consideração que era mês de setembro na cidade do Rio de Janeiro, sugerese que a causa pode estar relacionada à temperatura ambiente (nada amena) a qual a amostra
reidratada foi exposta durante os 7 dias de repouso não refrigerado. Antes da realização da
pipetagem para montagem das lâminas, essa camada foi cuidadosamente descartada, a amostra
foi "lavada" duas vezes com água destilada e novamente centrifugada conforme protocolo, até
que voltasse a ser límpida; 3- O tubo plástico contendo a amostra, durante a reidratação, foi
agitado vigorosa, diária e manualmente por sete dias, passo não existente em nenhuma outra
metodologia.

Essa metodologia de processamento e quantificação tem sido aplicada em diversos países asiáticos, com ênfase nos estudos coreanos. Entre eles podemos enumerar: o estudo de

Shin *et al.* (2009), que, analisando paleoparasitologicamente amostras de solo e lama (conteúdo de uso sanitário) do fosso das antigas ruínas do palácio Weolseong da Dinastia Silla, com habitação intensa entre os séculos V e VIII DC, depararam-se com muitos ovos de *T. trichiura* e um *Ascaris lumbricoides* precipitados no chão do fosso, numa quantificação de 100,25 OPG para o primeiro parasito. Esse resultado corrobora com um resumo apresentado neste mesmo estudo sobre as altas prevalências de tricuríase encontradas nas amostras arqueológicas da Coreia do Sul ao longo do tempo, principalmente nos anos imediatamente anteriores ao estudo supracitado (SEO *et al.*, 2007, 2008), estudos esses também conduzidos com a mesma metodologia.

Anos depois, Seo et al. (2014) confirmaram a presença de diversos parasitos (A.lumbricoides, T.trichiura, Metagonimus sp., Paragonimus westermani e Clonorchis sinensis) em quatro múmias da sociedade medieval coreana Joseon (1392–1897 DC), hoje correspondente à cidade de Seul, com realce para dois pontos: a alta prevalência de infecções parasitárias por C. sinenesis e P. westermani, que se mostraram mais elevadas no passado, entre os Joseon, que entre seus descendentes em estudos realizados dos anos 1960, o que para os autores não foi surpreendente, considerando sua forte e histórica tradição de consumo de peixe, evidenciada pelas inúmeras receitas encontradas em documentos históricos e ponto dois, a proporção de achados positivos nas amostras do estudo para A. lumbricoides e T. trichiura que foram de 50% e 77,8%, respectivamente.

Os autores supracitados destacam ainda, assim como o trabalho de Seo *et al.* realizado em 2010, também lançando mão da mesma metodologia de quantificação, que a presença de ovos diversos e muitos deles íntegros, está diretamente correlacionada com o bom nível de preservação de certos tipos de elementos culturais ou restos humanos do país, como artefatos, tecidos e cabelo. Nesse estudo de 2010 Seo *et al* realizaram exames em solo de tumbas medievais coreanas que permaneceram em uma situação peculiar, encapsuladas por uma barreira de mistura de cal e solo, barreira esta que permitiu e garantiu ótimos níveis de preservação, a ponto de obterem diagnóstico positivo de ovos de parasitos antigos, não tão comumente encontrados em amostras de sedimentos, como *A. lumbricoides, T. trichiura e P. westermani*.

Anos depois, em 2016, Kim *et al.* também aplicaram a mesma metodologia de processamento e quantificação em 49 amostras de um sítio arqueológico localizado numa

fortaleza medieval do antigo Reino de Silla na Coreia do Sul (57 aC-935 DC), onde especificamente, nas amostras do reservatório desta fortaleza, foram diagnosticados ovos de *Taenia* sp., *A. lumbricoides* e *Trichuris* sp.

Dentre as técnicas reproduzidas, as gotículas depositadas nas lâminas sul-coreanas possuíam a coloração mais escura, que por vezes dificultava a contagem dos ovos, necessitando de um leve ajuste na luminosidade, porém nada que um pouco mais de atenção do pesquisador não contornasse. As figuras 11 e 12 trazem registros da montagem das lâminas da técnica sulcoreana e ao lado uma visão microscópica da turbidez citada em uma delas.

Figuras 11- Montagem das lâminas da técnica sul-coreana. Figura 12 (à direita) - Visão microscópica da turbidez nas lâminas da técnica sul-coreana 40x.



Fonte: COSTA, A. C., 2020.

Embora nas 3 técnicas tenham sido observados ovos sem a membrana mamilonada ou com algum grau de degradação, nas lâminas da técnica sul-coreana, notou-se uma maior quantidade de ovos que perderam parcial ou completamente sua membrana e/ou estavam degradados.

Segundo afirmam Barbera, Hertzelb, Reinhard (2020) nos últimos anos, tem havido um aumento de relatos de ovos de parasitos decorticados e/ou degradados em contextos arqueológicos, particularmente de ovos de *A. lumbricoides*. Os autores seguem afirmando que a membrana albuminosa (mamilonada) pode sofrer algum grau de dano no processamento, como ser removida por esforços mecânicos como trituração, agitação, peneiramento vigoroso através de

micro malhas ou ainda banho ultrassônico. Sobre esse ponto, Roche *et al.* (2019), complementam reforçando que o problema com os ovos decorticados é que eles perdem sua característica principal de diagnóstico, e que, portanto é necessário cautela ao classificá-los como tipos de ascarídeos.

Embora estudos clínicos experimentais tenham discutido que apenas muito poucos ácidos e desinfetantes poderiam ser capazes de assolar o revestimento de albumina dos ovos de *A.lumbricoides*, a exemplo de Oh *et al.* (2016), as afirmativas citadas anteriormente, nos fazem refletir se há uma razão no experimento que teria motivado tanto o escurecimento do substrato da metodologia da escola sul-coreana, quanto a decorticação mais acentuada. O que remete a possibilidade de sugerir que a decorticação tenha relação direta com a agitação vigorosa manual por sete dias, acoplada à permanência da amostra processada em temperatura ambiente.

Quanto ao algoritmo aplicado para a quantificação sul-coreana de OPG, este chama a atenção por ser de aplicação relativamente simples, onde a quantidade total de ovos contabilizados na amostra é multiplicada pelo peso total da amostra em gramas. E sendo no presente experimento esse peso de 1g, assim como a maioria dos estudos que adotam esse método, consequentemente, o total de ovos contados (7.916) já constitui o número final de OPG.

Não se pode deixar de citar que na metodologia da escola sul-coreana, embora com o mesmo volume a ser pipetado por lâmina preparada (20 µl), na descrição do método, existe um intervalo no quantitativo destas (entre 12 e 18 lâminas).

O presente experimento foi executado com o critério de realizar o número máximo de volume a ser analisado e ovos contabilizados em todas as metodologias replicadas, de tal modo que o volume final contabilizado da técnica sul-coreana foi de 18 lâminas, totalizando 360 µl. Os estudos de referência para este método citam, na grande maioria, o valor de 200 µl analisados, o que gerou reflexão no presente estudo, pois se as análises tivessem sido realizadas com o menor quantitativo de lâminas, geralmente analisado em outros estudos, ou seja 10 a 12 lâminas em um volume total de 200 µl, o número total de ovos desse experimento provavelmente seria aquém do valor contado e despontaria com uma diferença maior ainda entre ele e o parâmetro considerado, ou seja, o número de ovos com valor subestimado em maior escala.

Por fim, ainda sobre a significativa diferença de valor entre a média dos ovos quantificados e o valor controle dessa metodologia, observando que o valor não se altera ao ser multiplicado por 1 (peso da amostra de 1g), pode-se refletir sobre a necessidade da realização

de mais experimentos, com *A. lumbricoides* ou outros parasitos, que, assim como esse, tenham o auxílio metodológico de quantificação controle, com vistas a testar a possibilidade de ajuste na fórmula (algoritmo). Segue abaixo, na figura 13, uma captura de ovo intacto de *A. lumbricoides* na lâmina 8 da contagem sul-coreana.

Figura 13- Ovo intacto de A. lumbricoides numa lâmina da contagem sul-coreana



Fonte: Registro fotográfico 100x COSTA, A. C., 2020.

12.6 METODOLOGIA APLICADA NO REINO UNIDO

Department of Archaeology and Anthropology, University of Cambridge (Yeh et al. 2016).

Decisivamente, na metodologia inglesa, o que detém mais atenção é seu algoritmo, mais especificamente, a multiplicação do número de ovos contabilizados em 200µl da amostra processada por cinco.

No modelo de referência, Yeh *et al.* (2016) citam que essa multiplicação dispensa a adição de *Lycopodium* como parâmetro proporcional de quantificação de OPG, mas o estudo não traz uma explanação clara do porquê do número cinco. No estudo citado, foram quantificados ovos de parasitos encontrados em *pool* de fezes que se encontravam presos em tecidos enrolados em bastões de bambu, utilizados como limpeza perianal após eliminação de fezes, em latrinas na hospedaria Xuanquanzhi (caracterizado como local de transição, descanso, hospedaria e alimentação) na histórica e relevante rota da seda chinesa. Foram diagnosticados

então, ovos de *T.trichiura*, *A. lumbricoides*, *Taenia* sp. e *C.sinensis*, sendo o último a descoberta epidemiológica mais significativa para os autores por representar a confirmação da migração de longas distâncias de pessoas de uma área irrigada do sul ou leste da China para esta estação retransmissora na Rota da Seda. De forma geral, os resultados do estudo geraram deduções sobre condições de higiene, consumo de alimentos e padrões de migração de pessoas na China da antiguidade, trazendo inferências à respeito da influência real da grande circulação de pessoas de diversas regiões e nacionalidades na rota da seda e seu consequente papel na disseminação de doenças infecciosas entre o Leste Asiático, o Oriente Médio e a Europa há mais de 2.000 anos.

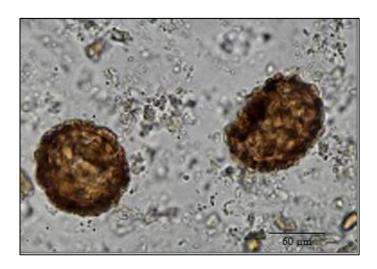
Em 2015, com liderança do britânico Dr. Piers Mitchell, Yeh *et al.* também lançaram mão da mesma metodologia em estudo que objetivava determinar quais parasitos estavam presentes em uma latrina medieval na cidade velha de Jerusalém datada entre os séculos XV e XVI. Nele, em 12 amostras de coprólitos e sedimentos, analisados com microscopia de luz e ensaio imunoenzimático (ELISA), seis espécies de parasitos intestinais foram identificadas (*A. lumbricoides, T. trichiura, Taenia* sp., *Diphyllobothrium* sp., *Entamoeba histolytica* e *Giardia duodenalis*). A diversidade de parasitos identificados corrobora com papel atribuído à Jerusalém ao longo dos séculos, como local para comércio de longa distância, migração ou peregrinação.

Quanto à reprodução da metodologia inglesa, com a multiplicação do total de ovos contabilizados em 0,2g de amostra pelo número cinco, os autores supracitados justificam tal qual o artigo de Yeh *et al.* (2016, p.70), declarando que

A aplicação desse algoritmo carrega a "vantagem" de evitar a necessidade de adição de esporos exóticos e também "evita o viés potencial de tomar uma alíquota de fluido desagregado para representar a amostra original maior, quando os ovos podem não ser uniformemente distribuídos por todo o fluido.

Sobre a significativa diferença de valor entre a média dos ovos quantificados e o valor controle dessa metodologia, eles foram diferentes numérica e estatisticamente, e em maior desproporção para menor valor dos três métodos replicados. Segue na figura 14, uma captura de ovos intactos de *A. lumbricoides* numa lâmina da técnica inglesa.

Figura 14 - Ovos intactos de A. lumbricoides numa lâmina da contagem inglesa.



Fonte: Registro fotográfico 100x COSTA, A. C., 2020.

13 CONCLUSÃO

Patoecologicamente, a comprovação e a possível manutenção do parasito diagnosticado neste trabalho, *Spirometra* sp. no ambiente evidenciadas pelas condições bióticas e abióticas favoráveis encontradas na área, além dos hábitos de subsistência desta população, já conhecidos, são evidências que permitem debater o potencial zoonótico deste parasito, bem como a esparganose como provável patologia desfecho dessa infecção, impactando em maior ou menor grau na saúde do grupo humano estudado.

No presente estudo, encontram-se contempladas as novas perspectivas para a Paleoparasitologia, valorizando: a relevância e consolidação de uma, com o acréscimo dos fatores culturais aos conceitos de nidalidade, e a modernidade da outra, com o acréscimo de modelos estatísticos como ferramenta de suporte epidemiológico.

Os parasitos proporcionam dados sobre o modo de vida dos diferentes grupos que viviam em uma determinada região, indicando direta ou indiretamente, condições de saúde e doença no decorrer do processo de evolução da espécie. Sendo a intensidade de uma infecção parasitária, ferramenta recente e relevantemente aplicada à paleoepidemiologia, estimada por sítio ou grupo populacional e calculada por meio da razão entre o somatório de OPG quantificado e o número de amostras positivas em cada sítio. Desse modo, conhecer qual técnica ou método de quantificação atual mais se aproxima de uma distribuição proporcional de parasitos em amostras de tempos remotos, além do ineditismo da proposta experimental, em busca do padrão-ouro no contexto da nova Paleoparasitologia, traz não só segurança científica, como endossa a relação da epidemiologia contemporânea com sua irmã paleoepidemiologia.

De forma sucinta, mirando que dados epidemiológicos de infecções em populações remotas, oriundos de sítios com boa preservação, possam ser correlacionados com dados de populações atuais, esse estudo experimental, demostrou que das três técnicas de quantificação de OPG aplicadas (americana, sul-coreana e inglesa), nenhuma foi estatisticamente abonada em relação à quantificação controle. Dá-se ênfase na metodologia americana, em virtude da proximidade numérica da quantificação nas fases controle e coprólito experimental.

Os resultados da inédita comparação das técnicas indica que americana e sul-coreana foram as que mais se aproximaram estatisticamente do parâmetro, sendo por conseguinte, metodologias para aplicações em coprólitos, com fins de inferências paleoepidemiológicas, igualmente recomendadas como elegíveis para realização de mais estudos que visem um

consenso de qual técnica de quantificação pode ser considerada "padrão ouro" em análises paleoepidemiológicas populacionais em sítios com boa preservação.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. **A tradição agreste**: análise de 20 sítios de arte rupestres em Pernambuco. 1986. Dissertação (Mestrado em Pré-História) Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 1986. Disponível em: https://periodicos.ufpe.br/revistas/clioarqueologica/article/viewFile/247231/36082. Acesso em: 22 jan. 2021.
- ALBUQUERQUE, M.; LUCENA, V. **Caçadores-coletores no agreste pernambucano:** ocupação e ambiente holocênico. Recife: UFPE, 1987, p.73-75. (CLIO Serie Arqueológica. n. 4). Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/7444/3/arquivo7767 1.pdf.txt. Acesso em: 02 jan. 2021.
- ALVES, J. R. *et al.* Parasitoses intestinais em região semi-árida do Nordeste do Brasil: resultados preliminares distintos das prevalências esperadas. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 667-670, 2003. Disponível em: https://www.scielosp.org/article/csp/2003.v19n2/667-670/. Acesso em: 20 jan. 2018.
- AMARAL, M. P. V. Os sítios de registros rupestres em Buíque, Venturosa e Pedra (PE) no contexto da geopaisagem. Recife: O Autor, 2007. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/715. Acesso em: 15 dez. 2019.
- AMATO-NETO, V.; CORRÊA, L. L. **Exame Parasitológico das Fezes**. 5. Ed. São Paulo: Sarvier, 1990.
- ANANTAPHRUTI, M. T. *et al.* Human sparganosis in Thailand: an overview. **Acta Tropica**, Basel, n. 118, p.171, 2011. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.03.011. Disponível em: https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=ANANTAPHRUTI%2C+M.+T.+et+al.+Human+sparganosis+in+Th ailand%3A+an+overview.+Acta+Tropica%2C+n.+118%2C+p.171%2C+2011.+&btnG=. Acesso em: 22 mar. 2020.
- ANASTASIOU, E.; MITCHELL, P. D. Human intestinal parasites from a latrine in the 12th century Frankish castle of Saranda Kolones in Cyprus. **International Journal of Paleopathology**, Amsterdã, n. 3, p.218-223, 2013a. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijpp. 2013.04.003. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981713000405?casa_token=ZFC2PJXgFgkAAAAA:7LnnakNoAKbLuJpLHw_djy 1P69vm3--zLVsYsrLvT_ke9sxIXXIdT5Y-FKIyDImdX-s1FT5GqA. Acesso em: 22 fev. 2021.
- ANASTASIOU, E.; MITCHELL, P. D. Simplifying the process for extracting parasitic worm eggs from cesspool and latrine sediments: a trial comparing the efficacy of widely used techniques for disaggregation. **International Journal of Paleopathology**, Amsterdã v. 3, p. 204-207, May 2013b. DOI:10.1016/j.ijpp.2013.04.004. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1879981713000417?via%3Dihub. Acesso em: 22 jan. 2021.
- ANDERSON, R. M.; MAY, R. M. Helminth infections of humans: mathematical models, population dynamics, and control. **Advances in Parasitology**, London, v. 24, p. 93-101, 1985. DOI: https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60561-8. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/ S0065308X08605618. Acesso em 30 dez. 2019.

- ARANDA, C. R. *et al.* Identificación y frecuencia de parásitos gastrointestinales en félidos silvestres en cautiverio en el Perú. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, Lima, v. 24, n. 3, p. 360-368, 2013. Disponível em: http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v24n3/a13v24n3.pdf. Acesso em: 24 mar. 2020.
- ARAÚJO, A. *et al.* Hookworm and the peopling of the Americas. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, n.2, p. 226–233, 1988. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X1988000200006. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-311X1988000200006&script=sci_arttext. Acesso em 19 out. 2018.
- ARAÚJO, A. *et al.* Paleoepidemiology of Intestinal Parasites and Lice in Pre-Columbian South America. **Chungará Journal of Chilean Anthropology**, Santiago do Chile, v.43, n. 2, p. 303-13, 2011. Disponível em: http://www.chungara.cl/index.php/vol43-2. Acesso em:10 nov. 2019.
- ARAÚJO, A. *et al.* Paleoparasitology: Perspectives with New Techniques. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 40, n. 6, p. 371–376, nov. 1998. DOI: https://doi.org/10.1590/S0036-46651998000600006. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/rimtsp/v40n6/40n6a6.pdf. Acesso em: 23 fev. 2020.
- ARAÚJO, A. *et al.* Paleoparasitology: the origin of human parasites. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v. 71, n. 9, p. 722–726, set, 2013. DOI: https://doi.org/10.1590/0004-282X20130159. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid =S0004-282X2013001000722. Acesso em: 24 nov. 2020.
- ARAÚJO, A. *et al.* Parasites as probes for prehistoric human migrations? **Trends in Parasitology**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 112-115, 2008. DOI: https://doi.org/10.1016/j.pt.2007. 11.007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S14714922080 00329. Acesso em: 22 mar. 2021.
- ARAÚJO, A. *et al.* Parasitism, the diversity of life, and paleoparasitology. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, n. 98, p.5–11, 2003. Supl. 1. DOI: https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000900003. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762003000900003. Acesso em: 23 mar. 2021.
- ARAÚJO, A. *et al.* Parasitos, parasitismo e paleoparasitologia molecular. ANM. Rio de Janeiro, **Anais Academia Nacional de Medicina**, Rio de Janeiro, v. 160, n.1, p. 20-27, 2000. Disponível em: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-276119. Acesso em: 22 mar. 2020.
- ARAÚJO, A.; FERREIRA, L. F.; CONFALONIERI, U. Oxyurid (Nematoda) egg from coprolites from Brazil. **The Journal of Parasitology**, Washington, v.68, p. 511-512, 1982. ARAÚJO, A.; FERREIRA, L. F. Homens e parasitos: a contribuição da paleoparasitologia para a questão da origem do homem na América. **Revista USP**, São Paulo, v.34, p.58 69, jun./ago., 1997.
- ARAÚJO, A.; FERREIRA, L.F.; CONFALONIERI, U. The contribution to the study of helminth findings in archaeological material in Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**. 1981; 41:873-81. *Pen drive*.
- ARAÚJO, A; FERREIRA, L.F. **Infecções parasitárias na pré-história da América do Sul**. *In*: VERAS, R.P. *et al*. (Orgs). Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1998. 172 p.

- (Epidemiológica series, n°4). ISBN 85-85676-54-X. Disponível em: http://books.sc elo.org/id/p5z3b/pdf/veras-9788575412633-07.pdf. Acesso em: 21 mar. 2021.
- ARAÚJO, A. J. *et al.* Coprotest® quantitativo: quantificação de ovos de helmintos em amostras fecais utilizando-se sistema de diagnóstico comercial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial,** Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, p. 115-124, 2003. DOI: https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000200005. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442003000200005. Acesso em:18 nov. 2019.
- ARAÚJO, A.; RANGEL, A.; FERREIRA, L. F. Climatic change in Northeastern Brazil paleoparasitological data. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 88, p. 577-559, 1993. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761993000400014. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/mioc/v88n4/vol88(f4)_070-072.pdf. Acesso em 22 maio 2019.
- ARAÚJO, J.V. *et al.* In vitro evaluation of the effect of the nematophagous fungi Duddingtonia flagrans, Monacrosporium sinense, and Pochonia chlamydosporia on Ascaris suum eggs. **Parasitology Research**, [s. l.], v. 102, n. 4, p. 787–790, Mar. 2008. DOI: https://doi.org/10.1007/s00436-007-0852-9. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-007-0852-9?shared-article-renderer.Acesso em: nov. 2018.
- ARRIAZA, B.T.; SCHWARTZ, J.H. **Beyond death: the Chinchorro mummies of ancient Chile**. Washington DC, USA: Smithsonian Institution Press, 1995. *Pen drive*.
- ÁVILA-PIRES, F. D. A propósito da paleoparasitologia. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 4, n.4, p. 429-431, out./dez. 1988. *Pen drive*.
- BACELAR, P. A. A. *et al.* Parasitoses intestinais e fatores associados no estado do Piauí: uma revisão integrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 1802-1809, 2018. DOI: 10.25248/REAS223_2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/325249615. Acesso em: 10 nov. 2019.
- BAHMANI, M. *et al.* The most common herbal medicines affecting Sarcomastigophora branches: a review study. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, China, v.7, p.14-S21, 2014. DOI: https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60198-X. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S199576451460198X. Acesso em: 23 mar. 2021.
- BAKELS, C. Pollen and Archaeology. *In*: A. G. Henry (ed.). **Handbook for the Analysis of Micro-Particles in Archaeological Samples**. Switzerland: 2020. p.203-224. ISBN: 978-3-030-42622-4. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-42622-4_9. Acesso em: jan. 2021. *E-book*.
- BARATA, R. B. Cem anos de endemias e epidemias. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 5, n.2, p. 333-345, 2000. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/csc/v5n2/7099. pdf. Acesso em: 20 jan. 2020.
- BARBERA, A. R.; HERTZEL, D.; REINHARD, K. J. Attempting to simplify methods in parasitology of archaeological sediments: An examination of taphonomic aspects. **Journal of Archaeological Science**, Holanda, v. 33, Oct. 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j. jasrep.2020.102522. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352409X20303 138?casa_token=AaqmVzNSwW MAAAAA:hK4kUXdt xLpiwEmt RQ4BKOwqVyTg2-vAXxddilLpKI t5m70bgEtkvM16ui1ESv6 12wvC1LORcQ. Acesso em: 23 mar. 2021.

BARNES, A. N. *et al.* A systematic review of zoonotic enteric parasitic diseases among nomadic and pastoral people. **PLOS ONE**, Estados Unidos, v. 12, n. 11, 30 Nov. 2017. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188809. Disponível em: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0188809. Acesso em: 1 dez. 2019.

BASTOS, F. I.; LELES, D.; ARAÚJO, A. Do método em Paleoepidemiologia e as perspectivas da Paleoparasitologia. *In*: FERREIRA, L.F. FERREIRA; ARAÚJO, A.; REINHARD (Orgs). **Fundamentos da Paleoparasitologia**, Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2011. p. 473-80.

BASTOS, M. Q. R. *et al.* Estudo Preliminar de Dieta a Partir de Isótopos em Grupos Caçadores-Coletores do Agreste Pernambucano (Holoceno Recente - Nordeste do Brasil). **FUMDHAMentos**, [Piauí], v. XVI, n. 1. p. 03-18, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Ana-Solari 3/publication/344417587_ESTUDO_PRELIMINAR_
DE_DIETA_A_PARTIR_DE_ISOTOPOS_EM_GRUPOS_CACADORES-COLETORES_DO_AGRESTE_PERNAMBUCANO_HOLOCENO_RECENTE_-NORDESTE_DO_BRASIL_FUMDHAMentos_2019_vol_XVI_n_1_pp_03-18/links/5f73738fa6fDCc0086480465/ESTUDO-PRELIMINAR-DE-DIETA-A-PARTIR-DE-ISOTOPOS-EM-GRUPOS-CACADORES-COLETORES-DO-AGRESTE-PERNAMBUCANO-HOLOCENO-RECENTE-NORDESTE-DO-BRASIL-FUMDHAMentos-2019-vol-XVI-n-1-pp-03-18.pdf. Acesso em: 20 nov. 2020.

BASTOS, O. M.; ARAÚJO, A.; FERREIRA, L.F.; SANTORO, A.; WINCKER, P.; MOREL, C.M. Experimental paleoparasitology: identification of *Trypanosoma cruzi* DNA in desiccated mouse tissues. **Paleopathology Newsletter**, [s. l.], v. 94, p. 5-8, 1996. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/14688/2/ carlos23_morel_etal_IOC_1996.pdf. Acesso em: fev. 2018.

BEHRENSMEYER, A. K.; KIDWELL, S.M. Taphonomy's contributions to paleobiology. **Paleobiology**, New York, v. 11, p. 105-119, 1985. Disponível em: www.jstor.org/stable /2400427. Acesso em: 20 out. 2020.

BELTRAME, M. O. *et al.* Carnivores as zoonotic parasite reservoirs in ancient times: the case of the Epullán Chica archaeological cave (Late Holocene, northwestern Patagonia, Argentina). **Archaeological and Anthropological Sciences**, Berlin, v.10, p. 795-804, 2018. DOI: https://doi.org/10.1007/s12520-016-0399-8. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s12520-016-0399-8. Acesso em: 10 out. 2019.

BELTRAME, M. O. *et al.* Paleoparasitological study of rodent coprolites from "Los Altares" paleontological site, Patagonia, Argentina. **Quaternary International**, [Amsterdam], v. 352, p.59–63, 2014. DOI: https://doi.org/10.1016/j.quaint.2014.06.002. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1040618 214006430?casa_token=i3Q5h_2CrkIAAAAA:RYXQkJ9Xq1H0vqsY2mkrmjFDyZV8KzM7 aTkBFIk8toXGpRkorbYFIMpoEBkFbugghOTJZgHMaQ. Acesso em: 22 mar. 2020.

BEZERRA, F. S. M. *et al.* Incidência de parasitos intestinais em material subungueal e fecal em crianças da Creche Aprisco. Fortaleza, CE. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 1, p. 39- 40, 2003. Disponível em: https://pesquisa.bv salud.org/portal/ resource/pt/lil-394103. Acesso em: 10 jan. 2020.

- BRAIN, C.K. Bone weathering and the problem of bone pseudo-tools. **South African Journal of Science**, África do Sul, v. 63, p. 97-99, 1967. Disponível em: https://journals.co.za/doi/pdf/10.10520/AJA00382353_3666. Acesso em: 13 mar. 2020.
- BRASIL. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Ministério da Saúde. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 44, n.1, p. 200-220, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/ scielo.php?pid=S0034-89102010000100023 &script=sci_ art-text&tlng=pt. Acesso em: 22 mar. 2021.
- BUTZER, K. Arqueologia Una ecologia del hombre: Método e Teoria para un enfoque contextual. Barcelona: **Ediciones Bellaterra.** 1984.
- CALLEN, E.O.; CAMERON, T.W.M. A prehistoric diet as revealed in coprolites. **New Scientist Journal**, [s. l.], v. 8, p. 35–40, 1960. Disponível em: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19680801457. Acesso em: 10 fev. 2018.
- CAMACHO, M. *et al.* Lutz's spontaneous sedimentation technique and the paleoparasitological analysis of *sambaqui* (shell mound) sediments. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.108, p.155–159, 2013. DOI: https://doi.org/10.1590/0074-0276108022013005. Disponívem em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762013000200155&script=sci_arttext. Acesso em: 25 fev. 2021.
- CAMACHO, M. **Patoecologia da enterobíase em populações ancestrais de Pueblo dos Estados Unidos da América.** 2018. Tese (Doutorado em Epidemiologia em Saúde Pública) Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2018. *Pen drive*.
- CAMACHO, M. *et al.* Recovering parasites from mummies and coprolites: an epidemiological approach. **Parasites & Vectors**, [*s.l.*] v.11, p.248-256, 2018. DOI: https://doi.org/10.1186/s13071-018-2729-4. Disponível em: https://parasitesandvectors. biomeDCentral.com/articles/10.1186/s13071-018-2729-4. Acesso em: 24 fev. 2021.
- CAMACHO, M.; PERRI, A.; REINHARD, K. Parasite Microremains: Preservation, Recovery, Processing and Identification. *In*: HENRY, A. G. **Handbook for the Analysis of Micro-Particles in Archaeological Samples**. Switzerland: Springer Nature, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-42622-4. Acesso em: 01 jan. 2021.
- CAMACHO, M.; REINHARD K. J. Pinworm research in the Southwest USA: five decades of methodological and theoretical development and the epidemiological approach. **Archaeological and Anthropological Sciences**, v.12, n.63, 2020. DOI: https://doi.org/10.1007/s12520-019-00994-2. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12520-019-00994-2. Acesso em: 24 fev. 2021.
- CARVALHO, D.M. Doenças dos escravizados; doenças africanas? **Usos do Passado, XII,** Niterói. Rio de Janeiro, 2006. Trabalho apresentado no 12º Encontro Regional de História Associação Nacional de História (Anpuh), 2006. Disponível em: http://www.snh2011. anpuh.org/resources/rj/Anais/2006/conferencias/Diana%20Maul%20de%20Carvalho.pdf. Acesso em 20 mar. 2021.
- CASCARDO, PAULA. Inovações metodológicas para o estudo de parasitos em amostras da megafauna e de outros animais encontrados em sítios arqueológicos e paleontológicos do Brasil. 2017. Dissertação (Mestrado em Microbiologia e Parasitologia aplicadas) Universidade Federal Fluminense, Niteroi, Rio de Janeiro, 2017.

- CAVALCANTI, I. F. A. *et al.* **Tempo e Clima no Brasil.** São Paulo: Oficina de textos, 2009. ISBN 978-85-86238-92-5.
- CHAI, J.Y. *et al.* Fish-borne parasitic zoonoses: Status and Issues, **Internacional Journal Parasitology**, v.35, p.1233, 2005. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.07.013. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751905002766?casa_token =eQuL8RIbVy0AAAAA:yDP341-o84hZQqOZJfmFJUDIglJ2yf TwAxr1auD 90Zs9c lEbXB8PAmmaCHF0glJuIntUizvtcg. Acesso em: 15 mar. 2021.
- CHAME, M. Fezes de mamíferos terrestres: a morfometria resumo e descrição. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,** Rio de Janeiro, v.98, p. 71–94, 2003. DOI: https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000900014. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762003000900014&script=sci_arttext. Acesso em: 18 mar. 2021.
- CHAVES, A. *et al.* Estudo Comparativo dos Métodos Coprológicos de Lutz, Kato Katz e Faust modificado. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 13, p. 348 52, 1979. Disponível em: https://www.scielosp.org/pdf/rsp/1979.v13n4/348-352/pt. Acesso em: 10 jan. 2021.
- CHAVES, S.A.M.; REINHARD, K.J. Paleopharmacology and pollen: Method and application. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.98, p. 207-211, 2003. DOI: https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000900030. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762003000900030&script=sci_arttext. Acesso em: 23 mar. 2021.
- CHAVES, S.A.M.; REINHARD, K.J. Critical analysis of coprolite evidence of medicinal plant use Piauí, Brazil. **Palaeogeography, palaeoclimatologyPalaeoecology**, [st.], v. 237, p.110–118, 2006. DOI: https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2005.11.031. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031018206001064). Acesso em: 15 mar. 2021.
- CHUNG, S. W. *et al.* Two cases of pulmonary and pleural sparganosis confirmed by tissue biopsy and immunoserology Case Report. **The brazilian journal of infectious diseases**, [Brasil], v.16, n. 2, p. 200-203, 2012. DOI: https://doi.org/10.1016/S1413-8670(12)70307-0. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867012703070. Acesso em: 10 jan. 2021.
- COBBOLD, T. S. *et al.* Description of *Ligula mansoni*, a new human cestode, **Zoological Journal of the Linnean Society**, London, v.17, n. 78,1883. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1883.tb00237.x. Disponível em: https://academic.oup.com/zoolinnean/article-abstract/17/98/78/2739639. Acesso em: 20 mar. 2021.
- COCKBURN, T. A. The evolution and eradication of infectious diseases. **Perspect Biol Med**, Baltimor (USA), v.7, n.4, p. 498-499, 1964. DOI: https://doi.org/10.1353/pbm.1964.002010.1353. Disponível em: https://muse.jhu. edu/article/405003/pdf. Acesso em: 24 mar. 2021.
- COLLEY, D. G. Parasitic diseases: opportunities and challenges in the 21st century. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, p. 79-87, 2000. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762000000700015. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762000000700015&script=sci_arttext. Acesso em: 10 jan. 2020.
- CONFALONIERI, U. E. C. The experimental approach to paleoparasitology: desiccation of trichuris trichiura eggs. **Paleopathology News**, n.51, p.9-11, Sept. 1985. *Pen-drive*.

- COURA, J.R. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- CROFTON, H.D. A quantitative approach to parasitism. **Parasitology**, Cambridge, v. 62, n.2, p.179–93, 1971.DOI: https://doi.org/10.1017/S0031182000071420. Disponível em: https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/abs/quantitative-approach-to-parasitism/441E0546D967AF3A6C3516DCA740B56A. Acesso em:19 fev. 2021.
- CROZETTA, E. S. C. **Métodos coproparasitológicos mais comuns na identificação de parasitas intestinais:** breve abordagem teórica. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) Faculdade de Educação e Meio Ambiente FAEMA, Ariquemes (RO), 2012. Disponível em: http://repositorio.faema.edu.br:8000/xmlui/handle/123456789/253. Acesso em: 20 dez. 2019.
- DALL'AGNOL, L. P. *et al.* Parasitos gastrintestinais em gatos naturalmente infectados no município de santa maria no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Veterinária Brasílica**, Mossoró-RN, v.4, n.3, p.181-184, 2010. DOI: https://doi.org/10.21708/avb. 2010.4.3.1781. Disponível em: https://periodicos.ufersa.edu.br/ index.php/acta/article/view/1781. Acesso em: 20 jan. 2020.
- DE CARLI, G.A. Parasitologia Clínica Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001.
- DE CARLI, G. A. Demonstração e Quantificação de Ovos nas Fezes. In: De Carlli A (org.). **Parasitologia Clínica**: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. São Paulo: Atheneu, 2007. p.131-132.
- DIB, L. V. *et al.* Comparison of Four Parasitological Techniques for Laboratory Diagnosis of Eggs from *Spirometra* spp. in Wild Mammal Fecal Samples. **Acta Parasitologica**, Varsóvia, Sept. 2019. DOI: https://doi.org/10.2478/s11686-019-00120-1. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.2478/s11686-019-00120-1#citeas. Acesso em: 22 mar. 2021.
- DITTMAR K.; REINHARD, K. J.; ARAÚJO, A. The study of parasites through time: archaeoparasitology and paleoparasitology. In: GRAUER A (Editor). **Paleopathology:** a companion volume. Hoboken: Wiley/Blackwell Press, 2012. p. 170–90. DOI: 10.1002 / 9781444345940. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/ 10.1002/9781444345940#page=195. Acesso em: 10 jan. 2021.
- DRYDEN, M. W. *et al.* Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. **Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine,** Chicago, v.6, n.1, p. 15 28, 2005. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm .nih.gov/15906267/. Acesso em:19 fev. 2020.
- DUARTE, A.N. Estudo paleoparasitológico em coprólitos do sítio arqueológico da Furna do Estrago, Município do Brejo da Madre de Deus, Pernambuco-Brasil. 1994. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Parasiltologia Veterinária) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1994.
- DUFOUR, B.; LE BAILLY, M. Testing new parasite egg extraction methods in paleoparasitology and an attempt at quantification. **International Journal of Paleopathology**, [s. l.], v.3, p.199–203, 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijpp. 2013.03.008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981713000302). Acesso em: 19 fev. 2020.

- EBERHARD, M. L. *et al.* Thirty-Seven Human Cases of Sparganosis from Ethiopia and South Sudan Caused by Spirometra Spp. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene,** Arlington (EUA), v. 93, n.2, p. 350–355, 2015. DOI: https://doi.org/10.4269/ajtmh. 15-0236. Disponível em:https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/93/2/article-p350.xml. Acesso em: 20 jan. 2021.
- EFREMOV, E. Taphonomy: new branch of paleontology. **Pan American Geologycal**, v. 74, p. 81–93, 1940.
- ESCH, K. J.; PETERSEN, C. A. Transmission and Epidemiology of Zoonotic Protozoal Diseases of Companion Animals. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 26, n. 1, p. 58–85, Jan. 2013. DOI: 10.1128 / CMR.00067-12. Disponível em: https://cmr.asm.org/content/26/1/58. short. Acesso em: 22 mar. 2021.
- FAULKNER, C. T.; REINHARD, K. J. A Retrospective Examination of Paleoparasitology and Its Establishment in the Journal of Parasitology. **Journal of Parasitology**, [*s.l*], v. 100, n. 3, p. 253–259, June. 2014. DOI: https://doi.org/10.1645/13-485.1. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/100/3/253/6430 Acesso em: 22 fev. 2020.
- FERRAZ, A. *et al. Spirometra Mansonoides* em fezes de felino doméstico no município de Pelotas,RS, Brasil, relato de caso. **Scire Salutis**, Aracajú, v.10, n.1, p.10-13, 2020. DOI: http://doi. org/10.6008/CBPC2236-9600.2020.001.0002. Disponível em: http://sustenere.co/index.php/sciresalutis/article/view/3774. Acesso em: 20 fev. 2021.
- FERREIRA, L.F.; ARAÚJO, A.; CONFALONIERI, U.E.C. Finding of helminth eggs in a Brazilian mummy. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Londres, v. 77, p. 65-67, 1983. DOI: https://doi.org/10.1016/0035-9203(83)90017-2. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0035920383900172 Acesso em: 02 jan. 2019.
- FERREIRA, L.F.; ARAÚJO, A.; CONFALONIERI, U.E.C. Finding of helminth eggs in human coprolites from Unaí, MG. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Londres, v.74, n.6, p.798-800, 1980. DOI: https://doi.org/10.1016/0035-9203(80)90205-9. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0035920380902059. Acesso em: 02 jan. 2021.
- FERREIRA, L.F.; ARAÚJO, A.; CONFALONIERI, U. E. Subsídios para a paleoparasitologia do Brasil: parasitos encontrados em coprólitos no município de Unaí, MG. *In*: IV Congresso Brasileiro de Parasitologia, 1979, Campinas-SP. **Anais** [...], 1979, p.56.
- FERREIRA, L.F.; ARAÚJO, A. On hookworm in the Americas and trans-pacific contact. **Parasitology Today**, [Reino Unido], v.12, n.11, p. 454, Oct. 1996. DOI:10.1016 / 0169-4758 (96) 80826-x. Disponível em: https://europepmc.org/article/med/15275282. Acesso em: 26 mar. 2021.
- FERREIRA, L.F. *et al.* Encontro de ovos de ancilostomídeos em coprólitos humanos datados de 7230±80 anos, Piauí, Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.59, p. 280-281, 1987. *Pen drive*.
- FERREIRA, L.F. Introdução à Paleoparasitologia. In: FERREIRA, L.F.; ARAÚJO, A.; REINHARD. **Fundamentos da Paleoparasitologia**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2011.p. 27-41.

- FERREIRA, L. F.; JANSEN, A. M.; ARAÚJO, A. Chagas disease in prehistory. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, Rio de Janeiro, v.83, n.3, p.1041-1044, July. 2011. DOI: https://doi.org/10.1590/S0001-37652011005000013. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0001-37652011005000013&script=sci_arttext Acesso em: 20 jan. 2019.
- FERREIRA, L.F. O Fenômeno Parasitismo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba (MG), v.4, p. 261-277, jul./ago. 1973. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/ rsbmt/v7n4/06.pdf. Acesso em: 23 mar. 2021.
- FERREIRA, M. U.; FERREIRA, C. S.; MONTEIRO, C. A. Tendência secular das parasitoses intestinais na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 73-82, 2000. Disponível em: https://www.scielosp.org/pdf/rsp/2000.v34 n6suppl0/73-82/pt. Acesso em:20 fev 2021.
- FISHE, C.L. *et al.* Privies and Parasites: The Archaeology of Health Conditions in Albany, New York. **Historical Archeology,** New York, v.41, p. 172 197, 2007. DOI: https://doi.org/10.1007/BF03377301. Disponível em:
- https://link.springer.com/article/10.1007/BF03377301. Acesso em: 20 fev. 2020.
- FLORENZANO, A. *et al.* The Significance of Intestinal Parasite Remains in Pollen Samplesfrom Medieval Pits in the Piazza Garibaldi of Parma, Emilia Romagna, Northern Italy. **Geoarchaeology International Journal,** [s. l.], v. 27, n.1, p. 34 47, 2012. DOI: https://doi.org/10.1002/gea.21390. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/gea.21390 Acesso em: 29 mar. 2021.
- FOUANT, M. M. *et al.* Parásitos Intestinales Entre Los Indígenas Precolombinos. **Chungara** Revista de Antropología Chilena, Arica, v.9, p. 285-299, 1982. Disponível em: www.jstor.org/stable/27801757. Acesso em: 29 mar. 2021.
- FRÓES, O.M. Sparganose humana: o primeiro caso relatado para o Brasil. *In*: Congresso Latinoamericano de Parasitologia, 1., Santiago (Chile), 1967, p.143.
- FUGASSA, M.; ARAÚJO, A.; GICHÓN, R. Quantitative paleoparasitology applied to archaeological sediments. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.101, p.29-33, 2006. Suppl 2. DOI: https://doi.org/10.1590/S0074-02762006001000006. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762006001000006&script=sci_abstract&tlng=es. Acesso em: 20 mar. 2020.
- FUGASSA, M.; GUICHÓN, R. Análisis paleoparasitológico de coprolitos hallados en sítios arqueológicos de Patagonia austral: definiciones y perspectivas. **MAGALLANIA**, Punta Arenas-Chile, v.33, n.2, p. 13-19, 2005. DOI: http://dx.doi.org/10.4067/S0718-22442005000200002. Disponível em: https://scielo.conicyt.cl/pdf/magallania/v33n2/art02.pdf. Acesso em: 27 mar. 2021.
- FUGASSA, M. H. *et al.* Paleoparasitological analysis applied to museum-curated sacra from meridional Patagonian collections. **Journal of Archaeological Science**, Argentina, v.35, p.1408-1411, May 2008. DOI:10.1016/j.jas.2007.10.006. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030544030700194X. Acesso em: 18 jan. 2018.
- FURTADO, L. F. V.; MELO, A. C. F. L. Prevalência e aspectos epidemiológicos de enteroparasitoses na população geronte de Parnaíba, Estado do Piauí. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n. 4, p. 513-515, 2011. DOI:

- https://doi.org/10.1590/S0037-86822011000400023. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822011000400023&script=sci_arttext. Acesso em: 27 mar. 2021.
- GOMES, A.H.S. *et al.* Esparganose humana: relato de um novo caso no estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz,** São Paulo, v.56, n.2, p. 13-15, 1996. Disponível em: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-196804. Acesso em: 12 dez. 2020.
- GOMES, J. F. Avaliação de um novo *kit* (*tf-test*) nacional destinado ao diagnóstico de enteroparasitoses em amostras fecais. Dissertação (INSTITUTO DE BIOLOGIA Mestrado em Parasitologia) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/315003. Acesso em: 02 jan. 2021.
- GONÇALVES, M. L.; ARAÚJO, A.; FERREIRA, L. F. Human intestinal parasites in the past: new findings and a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, p.103-118, 2003. suppl 1. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762003000900016. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/mioc/v98s1/v98s1a16.pdf Acesso em: 27 jan. 2021.
- GONÇALVES, M. L.; ARAÚJO, A.; FERREIRA, L. F. Paleoparasitologia no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, São Paulo, v.7, n.1, p.191-196, 2002. DOI: https://doi.org/10.1590/S1413-81232002000100018. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/csc/v7n1/a18v07n1.pdf. Acesso em: 28 mar. 2021.
- GUEDES, L. A. African helminth infection out of Africa: Paleoparasitological and paleogenetic investigations in Pretos Novos cemetery, Rio de Janeiro, Brazil (1769–1830) **Acta Tropica** [*s.l.*], v.205, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105399 Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X19304747. Acesso em: 27 mar. 2021.
- HA, K.Y.; OH, I.S. Case report: Lower extremity Sparganosis in a bursa, Clinical Orthopaedics and Related Research, EUA, v. 469, p. 2072, 2011. DOI: 10.1007 / s11999-011-1901-3. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3111 765/. Acesso em: 22 mar. 2021.
- HAN, E.T. *et al.* Detection of parasite eggs from archaeological excavations in the Republic of Korea. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, p. 123–126, jan. 2003. suppl 1. DOI: https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000900018. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/mioc/v98s1/v98s1a18.pdf. Acesso em: 27 mar. 2021.
- HERNÁNDEZ-ORTS, J. S. *et al.* High morphological plasticity and global geographical distribution of the Pacific broad tapeworm Adenocephalus pacificus (syn. Diphyllobothrium pacificum): Molecular and morphological survey. **Acta tropica**, [s. l.], v. 149, p. 168–178, Sept. 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.05.017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X15300103?casa_token=tMxb_1f RKTQAAAAA:FbeWAwuddtcj3UaTt6CXjkF8n4huS1Cifw4TTCfWYaooZwI-rLQPpNj039bAbI0i0PLSZyNNNA. Acesso em: 28 mar. 2021.
- HOFSTÄTTER, B. D. M. *et al.* Effect of Paecilomyces lilacinus, Trichoderma harzianum and Trichoderma virens fungal extracts on the hatchability of Ancylostoma eggs. **Revista Iberoamericana de Micología**, España, v. 34, n. 1, p. 28–31, Jan. 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.04.004. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1130140616300341. Acesso em: 31 mar. 2021.

- HOLODNIY, M. *et al.* Cerebral sparganosis: case report and review. **Reviews of Infectious Diseases**, Chicago, v.13, p. 155- 159, Jan. 1991. Issue 1. DOI: https://academic.oup.com/cid/article-abstract/13/1/155/303701. Disponível em: https://academic.oup.com/cid/article-abstract/13/1/155/303701. Acesso em: 28 mar. 2021.
- HUBBER, F.; BONFIM, T. C.; GOMES, R. S. Comparação da eficiencia da técnica de sedimentação pelo formaldeído-éter e da técnica de centrífugo-flutuação modificada na detecção de cistos de *Giardia* sp. e oocistos de *Cryptosporidium* sp. em fecais de bezerros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [São paulo], v.12, n.3, p. 135-137, Dec. 2003. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Teresa-Bomfim-2/publication/ 242251030. Acesso em: 29 mar. 2021.
- HUGHES, A. J.; BIGGS, B. A. Parasitic worms of the central nervous system: an Australian perspective. **Internal Medicine Journal**, Australia, n. 32, p. 541-553, Oct. 2002. DOI: https://doi.org/10.1046/j.1445-5994.2002.00265.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1445-5994.2002.00265.x. Acesso em: 01 abr. 2021.
- IÑIGUEZ, A. M. Paleoparasitologia Molecular e Paleogenética para o Estudo das Doenças Infecto-Parasitarias do Passado: Princípios, Metodologia e Agravos. *In*: LUNA, L. H.; ARANDA, C. M.; SUBY, J. A. **Paleoparasitologia Molecular e Paleogenética.** Buenos Aires: Avances Recientes de la Bioarqueología Latinoamericana, 2014. p. 285-319. ISBN: 978-987-27997-1-7. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Alena-Iniguez/publication/281101228_Paleoparasitologia_Molecular_e_Paleogenetica_para_o_Estu do_das_Doencas_Infecto-
- Parasitarias_do_Passado_Principios_Metodologia_e_Agravos_AVANCES_RECIENTES_DE _LA_BIOARQUEOLOGIA_LATINOAMERICANA/links/55d4d48f08ae6788fa352681/Pale oparasitologia-Molecular-e-Paleogenetica-para-o-Estudo-das-Doencas-Infecto-Parasitarias-do-Passado-Principios-Metodologia-e-Agravos-AVANCES-RECIENTES-DE-LA-BIOARQUEOLOGIA-LATINOAMERICANA.pdf. Acesso em: 31 mar. 2021.
- INVTUR PE. Inventário de Turismo do Pernambuco-Brasil. **Inventariopeblogspot**, Recife, 2017. Disponível em: http://inventariope.blogspot.com/search/label/Venturosa. Acesso em: 02 de fevereiro de 2019.
- IPHAN. Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. Rede de Arquivos. Disponível em: http://portal.iphan.gov.br/pagina/detalhes/560/ site. Acesso em: 20 fev. 2020.
- JATOBA, L.; R. C. LINS. **Introducão a Geomorfologia.** 5.ed. Recife: Bagaço, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/349324136_INTRODUCAO_A _GEOMORFOLOGIA. Acesso em:28 mar. 2021.
- JONES, A. K. G.; HALL, A. R. A Coprolite from 6-8 Pavement. In Environment and Living Conditions at Two Anglo-Scandinavian Sites. **British Archaeology**, York, p. 225-229, 1983.
- JONES, A. K. G.; NICHOLSON, C. Recent discoveries of Britain's Trichuris and Ascaris eggs. **Paleopatology News**, [s. l.], n.62, p. 5-6, 1988.
- JONES, A. K. G. Trichurid Ova in Archaeological Deposits: Their Value as Indicators of Ancient Feces. *In*: FIELLER, N. J. R.; GILBERTSON, D.; RALPH, N. G. A. **Paleobiological Investigations**: Research Design, Methods and Data Analysis. [s. l.]: BAR International Series, n. 266. 1985. p. 105-114.
- JOVANI, R.; TELLA, J. L. Parasite prevalence and sample size: misconceptions and solutions. **Trends Parasitology**, Amsterdã, v. 22, p. 214–8, May. 2006. DOI:

- https://doi.org/ 10.1016/j.pt.2006.02.011. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492206000559. Acesso em: 29 mar. 2021.
- KILLICK-KENDRICK, R. *et al.* Possible origins of Leishmania chagasi. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v. 74, n. 5, p.563-565, 1980. DOI: https://doi.org/10.1080/00034983.1980.11687385. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00034983.1980.11687385? journalCode=ypgh19. Acesso em: 02 abr. 2021.
- KIM, M. J. *et al.* Paleoparasitological study on the soil sediment samples from archaeological sites of ancient Silla Kingdom in Korean peninsula. **Quaternary International,** [Amsterdam], v. 405, p. 80-86, June. 2016. DOI: https://doi.org/10.1016/j.quaint.2015.02.007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1040618215000968. Acesso em: 01 abr. 2021.
- KNORR, D. A. *et al.* Intestinal parasites in six Islamic medieval period latrines from 10th–11th century Córdoba (Spain) and 12th–13th century Mértola (Portugal). **International Journal of Paleopathology**, [s. l.], v. 26, p. 75 83, 2019. DOI: 10.1016 / j.ijpp.2019.06.004. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981719300099. Acesso em: 30 mar. 2021.
- KOŁODZIEJ-SOBOCIŃSKA M.; MARIUSZ, M. Sparganosis neglected zoonosis and its reservoir in wildlife. **Medycyna Weterynaryjna**, Poland, v.74, n. 4, p. 224-227, 2018. DOI: dx.doi.org/10.21521/mw.6088. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Marta-Kolodziej-Sobocinska/publication/323338996_Sparganosis_-_Neglected_zoonosis_and_its_reservoir_in_wildlife/links/5aa686ffa6fDCc29af531586/Sparganosis-Neglected-zoonosis-and-its-reservoir-in-wildlife.pdf. Acesso em: 01 abr. 2021.
- KOO, M. *et al.* Cases and Literature Review of Breast Sparganosis. **World Journal of Surgery,** Berlim, v.35, p.573–579, 2011. DOI: 10.1007/s00268-010-0942-1. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21203758/. Acesso em: 02 abr. 2021.
- KRON, M. A. *et al.*, Abdominal sparganosis in Ecuador: A case report. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene,** Arlington (EUA), v. 44, n.2, p.146, 1991. DOI: https://doi.org/10.4269/ajtmh.1991.44.146. Disponível em: https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/44/2/article-p146.xml. Acesso em: 30 mar. 2021.
- KUCHTA, R. *et al.* Diphyllobothrium, Diplogonoporus, *and* Spirometra. *In*: XIAO, L.; RYAN, U., FENG, Y. **Biology of Foodborne Parasites.** Boca Raton: CRC Press, 2015. Disponível em https://www.researchgate.net/publication/277667508. Acesso em: 30 mar. 2021. *E-book*.
- KUMM, K. *et al.* Archaeoparasitological investigation of a mummy from Sicily (18th–19 thcentury AD). **Anthropologie**, Morávia, v. 48, n. 2, p. 177–184, 2010. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/26292907?seq=1. Acesso em: 3 mar. 2021.
- LE BAILLY, M.; BOUCHET, F. Diphyllobothrium in the past: Review and new records. **International Journal of Paleopathology**, v. 3, n. 3, p. 182–187, Sept. 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijpp.2013.05.004. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981713000508. Acesso em: 03 abr. 2021.
- LE BAILLY, M. *et al.* Identification of *Taenia* sp. in a mummy from a Christian necropolis in El-Deir, Oasis of Kharga, Ancient Egypt. **Journal of Parasitology**, Washington, v. 96, p. 213–215, 2010. DOI: https://doi.org/10.1645/GE-2076.1. Disponível em: https://bioone.org/journals/journal-of-parasitology/volume-96/issue-1/GE-

- 2076.1/Identification-of-Taenia-sp-in-a-Mummy-From-a-Christian/10.1645/GE-2076.1.short. Acesso em: 01 jan. 2021.
- LE BAILLY, M. Evolution de la relation hôte/parasite dans le système lacustre nord alpins au Néolithique (3900-2900 BC), et nouvelles données dans la détection des paléoantigènes de Protozoa. 2005. Thèse de doctorat en Pharmacie Sous la direction de Françoise Bouchet. Soutenue en 2005 à Reims, dans le cadre de Unité de formation et de recherche de pharmacie. Ecole doctorale "Science, Technologie, santé" de Reims. 2005. Disponível em: https://www.theses.fr/2005REIMP202. Acesso em: 01 jan. 2021.
- LEDGER, M. L. *et al.* Intestinal parasites from public and private latrines and the harbour canal in Roman Period Ephesus, Turkey (1st c. BCE to 6th c. CE). **Journal of Archaeological Science,** Amsterdã, v. 21, p. 289 297, 2018. DOI: https://doi.org/ 10.1016/j. jasrep.2018.07.013. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352409X18300671. Acesso em: 02 abr. 2021.
- LEE, KYUNG-JOON; MYUNG, NA-HYE; PARK, HYUN-WOO. A case of sparganosis in the leg. **Korean Journal Parasitology**, Korean, v.48, p. 309, Dec. 2010. DOI: 10.3347/kjp.2010.48.4.309. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3018580/pdf/kjp-48-309.pdf. Acesso em: 03 abr. 2021.
- LELES. D. *et al.* Insights about echinostomiasis by paleomolecular diagnosis. **Parasitology International,** [Amsterdã], v.63, n.4, p.646–649, 2014. DOI: https://doi.org/10.1016/j.parint. 2014.04. 005. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383576914 000531. Acesso em: 01 abr. 2021.
- LELES *et al.* Methodological innovations for the study of irreplaceable samples reveal giardiasis in extinct animals (Nothrotherium maquinense and Palaeolama maior). **Parasitology International**, [Amsterdã], v.67, n.6, p.776–780, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.07.011. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383576918300369. Acesso em: 04 abr. 2021.
- LELES, D. *et al.* Molecular diagnosis of ascariasis from human feces and description of a new *Ascaris* sp. genotype in Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v.163, p.167 170, July 2009. DOI: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.03.050. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030440170900212X. Acesso em: 03. abr. 2021.
- LELES, D. *et al.* Parasitological paradox: why is ascarid infection so rare in the prehistoric Americas. **Journal of Archaeological Science,** [Amsterdã], v.37, n.7, p.1510-1520, 2010. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.01.011. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305440310000166. Acesso em: 29 mar. 2021.
- LI, H.; HU, J.; YANG, P. Diagnosis and treatment of human sparganosis. **The Lancet Infectious Diseases,** [s. l.], v. 19, n. 6, p. 577-578, June 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30218-X. Disponível em: https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/ PIIS1473-3099(19)30218-X/fulltext. Acesso em: 04 abr. 2021.
- LIMA, J. M. D. *et al.* Chagas Disease in Ancient Hunter-Gatherer Population, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Bethesda, v. 14, n. 6, p. 1001–1002, June, 2008.

- DOI: 0.3201 / eid1406.0707. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2600313/. Acesso em: 06 abr. 2021.
- LIMA, F. L. O. *et al.* Um século do exame parasitológico de Lutz e sua relevância atual. **Revista Brasileira de Análises Clínicas,** Rio de Janeiro, v. 52, p.32-34, 2020. DOI: 10.21877/2448-3877.201900908. Disponível em: http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2020/06/RBAC-vol-52-1-2020-ref-908.pdf. Acesso em: 03 mar. 2021.
- LIMA, J. M. D. Arqueologia da Furna do Estrago, Brejo da Madre de Deus, Pernambuco-Recife. 1985. Dissertação (Mestrado em Antropologia) Universidade Federal de Pernambuco), Recife, 1985.
- LI, M. W. *et al.*, Sparganosis in mainland China, **International Journal of Infectious Diseases**, [Amsterdã], v.15, n.3, p. 154-156, 2011. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2010 .10.001. Disponível em: (https://www.sciencedirect.com/science/article /pii/S1201971210025233). Acesso em: 06 abr. 2021.
- LO PRESTI, A. *et al.* Cerebral sparganosis: case report and review of the European cases. **Acta Neurochirurgica,** Switzerland, v.157, p. 1339–1343, 2015. DOI: https://doi.org/10. 1007/s00701-015-2466-9. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00701-015-2466-9#citeas. Acesso em: 04 abr. 2021.
- LOTFY, W. M. Neglected rare human parasitic infections: Part I: Sparganosis. **PARASITOLOGISTS UNITED JOURNAL,** Egypt, v. 13, n. 1, Apr. 2020. DOI: 10.21 608/puj.2020.26457.1065. Disponível em: https://journals.ekb.eg/article_87422.html. Acesso em: 15 fev.2021.
- LUFT, V. J. **A Pedra do Tubarão: um sítio da tradição agreste de Pernambuco.** 1990. Dissertação (Mestrado em Arqueologia) Universidade Federal do Pernambuco UFPE, Recife, 1990.
- LUTZ A. O Schistosomum mansoni e a schistosomatose segundo observações, feitas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.11, p. 121-155, 1919. DOI: DOI: 10.1590 / S0074-02761919000100006. Disponível em: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19202901271. Acesso em: 10 jan. 2018.
- LYMAN, R. L. What taphonomy is, what it isn't, and why taphonomists should care about the difference. **Journal of Taphonomy**, Teruel (Spainv), v. 8, n. 1, p. 1–16, 2010. Disponível em: http://faculty.missouri.edu/~lymanr/pdfs/2010%20what%20taph %20is.pdf. Acesso em: 03 abr. 2021.
- MACPHERSON, C. N. L. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. **International Journal for Parasitology**, [Amsterdã], v. 35, n. 11–12, p. 1319–1331, 2005. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.06.004. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751905002092. Acesso em: 10 fev. 2021.
- MARIANO, M. L. M. *et al.* Uma nova opção para diagnóstico Parasitológico: Método de Mariano e Carvalho. **News Lab.** v. 68, p. 132-140, 2005. Disponível em: http://www.newslab.com.br/ed_anteriores/68/art03.pdf. Acesso em: 01 jan. 2020.
- MARQUES, S. M. T. *et al. Spirometra mansonoides* (Cestoda:Diphyllobothriidae) nas fezes de felídeos atendidos em Porto Alegre/RS Um parasito negligenciado. **PUBVET**, Maringá v.13, n. 4, p.1-4, abr. 2019. DOI: org/10.31533/pubvet.v13n4a307.1-4. Disponível em: file:///D:/Adeliana/Downloads/spirometra-mansonoides-cestodadiphyllo%20(4).pdf. Acesso em: 24 jan. 2021.

- MARTIN, G. As pinturas rupestres do sítio Alcobaça, Buíque PE, no contexto da Tradição Agreste. IN: **CLIO Arqueológica, Recife,** n. 18. Recife: Editora da Universidade Federal de Pernambuco. p. 27-49, 2005. Disponível em https://www.scielo.br/pdf/mioc/v98s1/v98s1 a29.pdf. Acesso em: 24 jan. 2018.
- MARTIN, G. **Pré-Historia do Nordeste do Brasil**. Recife: Editora Universitária da Universidade Federal de Pernambuco. 1997.
- MARTINSON, E. *et al.* Pathoecology of Chiribaya parasitism. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de janeiro, v. 98, n.1, p.195–205, 2003. DOI: http://dx.doi. org/10.1590/S0074-02762003000900029. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762003000900029&script=sci_arttext. Acesso em: 18 jan. 2019.
- MENTZ, M. B. *et al.* HUMAN OCULAR SPARGANOSIS IN SOUTHERN BRAZIL CASE REPORT. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo,** São Paulo, v. 53, n.1, p.51-53, jan./fev. 2011. Doi: 10.1590/S0036-46652011000100009. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S003646652011000100009&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 22 jan. 2021.
- MILNER, G. R.; BOLDSEN, J. L. Life not death: Epidemiology from skeletons. **International Journal of Paleopathology**, [Amsterdâ], v.17, p.26–39, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijpp.2017.03.007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981717300487. Acesso em: 20 jan. 2021.
- MITCHELL, P. D. Human parasites in the Roman World: health consequences of conquering an empire. **Parasitology Cambridge University Press**, London, v.144, n.1, p. 48-58, 08 Jan. de 2017. DOI: 10.1017/S0031182015001651. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26741568/. Acesso em: 20 mar. 2021
- MITCHELL, P. *et al.* The intestinal parasites of King Richard III. **The lancet**, London, n.382 Sept. 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61757-2. Disponível em: https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(13)61757-2/fulltext. Acesso em: 02 fev. 2021.
- MOLNÁR, P. K. *et al.* Thermal Performance Curves and the Metabolic Theory of Ecology: A Practical Guide to Models and Experiments for Parasitologists Raffel. **Journal of Parasitology**, EUA, v.103, n.5, p. 423–439, 2017. DOI: https://doi.org/10.1645/16-148. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/103/5/423/5133. Acesso em: 19 jan. 2021.
- MORROW, J. J. *et al.* Taphonomic considerations for the analysis of parasites in archaeological materials. **International Journal of Paleopathology**, [Amsterdâ], v. 13, p. 56–64, June. 2016. DOI:10.1016/j.ijpp.2016.01.005. Disponível em: https://pubmed.ncbi. nlm.nih.gov/29539509/. Acesso em: 20 mar. 2021.
- MORROW, J. J. Exploring Parasitism in Antiquity Through the Analysis of Coprolites and Quids from La Cueva de LOs Muertos Chiquitos, Rio Zape, Durango, Mexico. 2016. Degree of Doctor of Philosophy University of Nebraska, Lincoln, Nebraska, USA, 2016. *Pen drive*.
- MORROW, J. J.; REINHARD, K. J. The Paleoepidemiology of *Enterobius vermicularis* (Nemata: Oxyuridae) Among the Loma San Gabriel at La Cueva de los Muertos Chiquitos (600–800 CE), Rio Zape Valley, Durango, Mexico. **COMPARATIVE PARASITOLOGY**, Washington, v. 88, n.1, p. 27–33, Jan. 2018. DOI: https://doi.org/10.1654/1525-2647-85.1.27.

- Disponível em: https://bioone.org/journals/comparative-parasitology/volume-85/issue-1/1525-2647-85.1.27/The-Paleoepidemiology-of-Enterobius-vermicularis-Nemata--Oxyuridae-Among-the/10.1654/1525-2647-85.1.27.full. Acesso em:14 mar. 2020.
- MUELLER, J. F.; COULSTON, F. Experimental human Infection with the *Sparganum* larva of *Spirometra mansonoides* (Mueller, 1935). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Arlington, EUA, v.21, n.3, p. 399-425, 1941. DOI: https://doi.org/10.4269/ajtmh. 1941.s1-21.399. Disponível em: https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/s1-21/3/article-p399.xml. Acesso em:19 fev. 2021.
- Muller, R. Worms and Human Disease. 2. ed. Wallingford: CABI Publishing, 2002.
- NATH, R.; GOGOI, R. N. Ocular sparganosis from Assam. **Tropical Parasitology,** [Indian], v. 5, n.1, p. 64-67, 2015. DOI:10.4103 / 2229-5070.149930. Disponível em: https://www.tropicalparasitology.org/text.asp?2015/5/1/64/149930. [serial online] Acesso em: 20 fev. 2020.
- NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.
- NEWELL, D. G. *et al.* Food-borne diseases The challenges of 20years ago still persist while new ones continue to emerge. **International Journal of Food Microbiology**, [Amsterdã], v. 139, p. 3–15, May 2010. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro. 2010.01.021. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160510000383. Acesso em: 02 jan. 2021.
- NOGUEIRA, J. M. R. **Paleoparasitologia: Estudos associados à recuperação de organismos bacterianos de esporos viáveis presentes em coprólitos sulamericanos.** 2008. Tese (Doutorado em Paleoparasitologia) Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de janeiro. 2008. Disponível em: https://www. arca. fiocruz.br/handle/icict/4578. Acesso em: 20 fev. 2020.
- NOVO, S. P. C. **Diagnóstico paleoparasitológico de protozoários do gênero Leishmania em material arqueológico da América do Sul.** 2015. Tese (Doutorado em Epidemiologia em Saúde Pública) FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: https://pesquisa. bvsalud.org/portal/resource/pt/tes-6692. Acesso em: 20 jan. 2018.
- NOVO, S. P. C.; FERREIRA L. F. The Paleoparasitology in Brazil and Findings in Human Remains from South America: a review. **Korean Journal Parasitology**, Seoul- Korea, v. 54, n. 5, p. 573-583, Oct. 2016. DOI:10.3347 / kjp.2016.54.5.573. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5127545/. Acesso em: 20 mar. 2021.
- NOYA, O. *et al. Sparganum proliferum*: an overview of its structure and ultrastructure. **International Journal for Parasitology**, [Amsterdâ] v.22, p.631-640, Aug. 1992. DOI: 10.1016/0020-7519(92)90012-a. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1399248/. Acesso em: 02 jan. 2021.
- NUNES, V. H. B. **Parasitos encontrados em hospedeiros extintos.** 2015. Dissertação (Mestrado em Saúde pública ENSP-FIOCRUZ) Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: https://www.arca.fiocruz. br/handle/icict/37250. Acesso em: 20 abr. 2021.
- OH, K. S. *et al.* Effects of Disinfectants on Larval Development of Ascaris suum Eggs. **Korean Journal Parasitology**, Seoul- Korea, v.54, n.1, p.103–107, Feb. 2016. DOI: org/10.3347/kjp.2016.54.1.103. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4792319/. Acesso em: 26 fev. 2021.

- OLIVEIRA, A. L. N. O sítio arqueológico Alcobaça: Buíque, Pernambuco. Estudo das Estruturas Arqueológicas. 2001. Tese de Doutorado (Programa de Pós-graduação em História) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.
- OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde BRASIL. Resolução **CD49.R19: eliminação de doenças negligenciadas e outras infecções relacionadas à pobreza.** Washington: Organização Pan-Americana da Saúde, 2009. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_docman&view=document&category_slug=doencas-negligenciadas-975&alias=900-resolucao-cd49-r19-out-2009-0&Itemid=965. Acesso em: 22 mar. 2020.
- ORTEGA, Y.R.; BONAVIA, D. Cryptosporidium, Giardia, and Cyclospora in ancient Peruvians. **Journal of Parasitology**, Lawrence (KS-USA), v.89, n.3, p. 635-636, 2003. DOI: https://doi.org/10.1645/GE-3083RN. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/89/3/635/3392. Acesso em: 15 jan. 2021.
- PAMPIGLIONE, S. *et al.*, Human sparganosis in Italy—Case report and review of the European cases, **Apmis Journal of Pathology, Microbiology and Imunology**, Denmark, v.111, p. 349, 2003. DOI: https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2003.1110208.x . Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1034/j.1600-0463.2003.1110208.x . Acesso em: 03 jan. 2021.
- PATRUCCO, R.; TELLO, R.; BONAVIA, D. Parasitological Studies of Coprolites of Pre-Hispanic Peruvian Populations. **Current Anthropology**, Chicago, v.24, n.3, p. 393–394, 1983. Disponível em: https://www.journals.uchicago.edu/doi/pdf/10.1086/203016. Acesso em: 20 fev. 2020.
- PAVLOVSKY, E. The Natural Nidality of Transmissible Diseases. **University of Illinois Press,** Illinois, 1966. Disponível em: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19672901301. Acesso em: 22 abr. 2020.
- PEARSALL, D. M. Pollen Analysis. In: **Paleoethnobotany, third edition: a handbook of procedures.** 3. ed. New York, USA: Routledge Taylor and Francis Group, 2016. p. 214–225. ISBN: 978-1-61132-298-9. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=hzVzCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA5&dq=PEARSALL,+D.+M.+Pollen+Analys is.+In:+Paleoethnobotany,+third+edition:+a+handbook+of+procedures.+&ots=KpmUmIu65v &sig=W1LIIKfNDyaO4Q27qEMiGpmUTXM&redir_esc=y#v=onepage&q=PEARSALL%2 C%20D.%20M.%20Pollen%20Analysis.%20In%3A%20Paleoethnobotany%2C%20third%20 edition%3A%20a%20handbook%20of%20procedures.&f=false Acesso em: 20 jan. 2021.
- PIZZI, T.; SCHENONE, H. Hallazgo de huevos de Trichuris trichiura em contenido intestinal de un cuerpo arqueológico incaico. Boletín de informaciones parasitarias chilenas, Santiago, v.9, p.54-59, 1954.
- PRICE, D. L. **Procedure Manual for Diagnosis of Intestinal Parasites**. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 1993.
- PUCU, E. *et al.* The Identification of Arthropods by Polymerase Chain Reaction as Probes for 3 Infectious Diseases Studies in Experimental Coprolites. **Journal of Parasitology,** Washington, n.18, p.133-134, Feb. 2019. DOI: https://doi.org/10.1645/18-136. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/105/1/133/210481 Acesso em: 20 jan. 2021.
- QIU, M. H.; QIU, M. D. Human plerocercoidosis and sparganosis: I. A historical review on aetiology. **Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi,** China, **v.** 27,

- p.54-60, Feb. 2009. PMID: 19459502. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih. gov/19459502/. Acesso em: 22 fev. 2021.
- QIU, M. H.; QIU, M. D. Human plerocercoidosis and sparganosis: II. A historical review on pathology, clinics, epidemiology and control. **Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi,** v. 27, n.3, p. 251-60, Jun. 2009a. PMID: 19852371. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19852371/. Acesso em: 21 fev. 2021.
- RABELLO, A. *et al.* Diagnóstico parasitológico, imunológico e molecular da Esquistossomose mansoni. In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L. orgs. **Schitosoma mansoni e esquistossomose**: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008. ISBN 978-85-7541-370-8. Disponível em: http://books.scielo.org/id/37vvw/pdf/carvalho-9788575413708-33.pdf. Acesso em: 30 mar. 2021.
- RÁCZ, S. E. *et al.* Parasitology in an archaeological context: analysis of medieval burials in Nivelles, Belgium. **Journal of Archaeological Science**, [Amsterdã], v.53, p.304-315, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jas.2014.10.023. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305440314003938. Acesso em: 23 jan. 2021.
- REGO, A. A.; SCHÀFFER, G.V. *Sparganum* in some brazilian vertebrales. Problems in the idenlification of species of *Luheella (Splrometra)*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.87, p. 213- 216, 1992. DOI: https://doi.org/10.1590/S0074-02761992000500040Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02761992000500040&script=sci_arttext. Acesso em:19 mar. 2021.
- REINHARD, K. J.; ARAÚJO, A. Synthesizing Parasitology with Archaeology in Paleopathology. *In*: BUIKSTRA, J.; ROBERTS, C. (Eds.). **The Global History of Paleopathology**. London: Oxford University Press, 2012. p. 751–764. Disponível em: https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1063&context=natresreinhard Acesso em: 20 jan. 2019.
- REINHARD, K. J.; AUDDERHEIDE, A.C. Diphyllobothriasis in pre-Columbian Chile and Peru: adaptative radiations of a helminth species to native American populations. **Papers on Paleopathology**, Cambridge, p. 18, 1990. 8° European Members Meeting, Cambridge, 1990.
- REINHARD, K. J. Bionomic disruptions and the health of Arctic people an adventure in retrospective pathoecology. **American Journal of Public Health**,[Switzerland], v.64, n.13, 1974.
- REINHARD, K. J.; BRYANT, V. Pathoecology and the future of coprolite studies. *In*: STODDER, A.W.M. (Editor). **Reanalysis and reinterpretation in southwestern bioarchaeology.** Tempe: Arizona State University Press, p. 199–216, 2008. Disponível em: https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1047&context=natresreinhard Acesso em: 22 abr. 2021.
- REINHARD, K.J.; BUIKSTRA, J. Louse infestation of the Chiribaya culture, Southern Peru: variation in prevalence by age and sex. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro,** v.98, p.173–9, 2003. DOI: https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000900026. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762003000900026. Acesso em: 2 abr. 2021.

- REINHARD, K. J.; CAMACHO, M. Parasitology. Identification of Pathological Conditions. *In*: BUIKSTRA, J. **Human Skeletal Remains**. 3 ed. Academic Press -Elservier: Amsterdã, 2019. p. 479 490. *Pen drive*
- REINHARD, K. J. *et al.* Chinese liver flukes in latrine sediments from Wong Nim's property, San Bernardino, California: archaeoparasitology of the Caltrans District headquarters. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 94, p. 300–303, Feb. 2008. DOI: https://doi.org/10. 1645/GE-1049.1. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/94/1/300/5306. Acesso em: 22 abr. 2021.
- REINHARD, K. J. *et al.* Food, parasites, and epidemiological transitions: a broad perspective. **International Journal of Paleopathology**, [Amsterdã], v.3, n.3, p.150–157, 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijpp.2013.05.003. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981713000491. Acesso em: 22 abr. 2021.
- REINHARD, K. J. *et al.* Mummy studies and archeoparasitology. In: Cockburn A, Cockburn E, Reyman TA (eds), **Mummies Disease and Ancient Cultures**, Cambridge University Press, Cambridge. 1998. p. 377-380.
- REINHARD, K. J. *et al.* Recovery of parasite remains from coprolites and latrines: aspects of paleoparasitological technique. **Homo**, Lincoln, Nebraska, v.37, p.217-239, 1986a. Disponível em: https://core.ac.uk/download/pdf/17217316.pdf Acesso em: 22 abr. 2021.
- REINHARD, K.J. *et al.* Understanding the pathoecological relationship between ancient dietand modern diabetes through coprolite analysis: a case example from AntelopeCave, Mojave County, Arizona. Curr. **Anthropol**, [Chicago], v.53, p.506–512, 2012. DOI: https://doi.org/10.1086/665923. Disponível em: https://www.journals.uchicago.edu/doi/pdf/10.1086/665923. Acesso em: 22 mar. 2021.
- REINHARD, K. J.; HEVLY, R. H.; ANDERSON, G. A. Helminth Remains from Prehistoric Indian Coprolites on the Colorado Plateau. **The Journal of Parasitology**, [Nova York], v. 73, n. 3, p. 630-639, June 1987. DOI: https://doi.org/10.2307/3282147. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/3282147. Acesso em: 2 abr. 2021.
- REINHARD, K. J.; MROZOWSKI, S.A.; ORLOSKI, K. A. Privies, pollen, parasites and seeds: a biological nexus in historic archaeology. **MASCA Journal**, Boston,v.4, p.31–36, 1986. Disponível em:https://www.scienceopen.com/document?vid=f8b148d7-c5a8-45f4-9f0f-284c37adad62 Acesso em: 02 jan. 2020.
- REINHARD, K. J. Parasitology as an interpretive tool in archaeology. **American Antiquity,** Cambridge, v. 57, n.2, p. 231–245, 1992. DOI: https://doi.org/10.2307/280729. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/280729. Acesso em: 21 abr. 2021.
- REINHARD K. J. Recent contributions to new world archaeoparasitology. **Parasitology Today**, [Amsterdã], v. 7, n. 4, 81-82, Apr. 1991. DOI: 10.1016 / 0169-4758 (91). Disponível em: https://europepmc.org/article/med/15463449 Acesso em: 18 abr. 2021.
- REINHARD, K. J. Reestablishing rigor in archaeological parasitology. **International Journal of Paleopathology**, [Amsterdã], v.19, p.124–134, 2017. DOI: https://doi.org/ 10.1016/j.ijpp.2017.06.002. Disponível em:https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981717300815. Acesso em: 22 abr. 2021.
- REINHARD, K.J. Relation of climate to epidemiology of infectious disease among Arctic populations. **Alaska Medicine**, v.16, p. 25–30, 1974a.

- REINHARD, K. J. The impacto f diet, and parasitismo on anemia in the prehistoric West. *In*: STUART-MCADAM, P & KENT, S. **Demography and Disease**: changing perspectives of anemia. New York, p. 219-258, 1992.
- REY, L. Bases da Parasitologia Médica. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- REY, L. Parasitologia. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- REY, L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos Trópicos Ocidentais. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- RITCHIE, L.S. Uma técnica de sedimentação de éter para rotina exames de fezes. Exército dos EUA: Med Dep Bull. V.8, p.326, 1948.
- ROBERTS, L.; JANOVY J. R. J.; NADLER, S. Basic Principles and Concepts I: Parasite Systematics, Ecology, and Evolution. *In*: ROBERTS, L; JANOVY J.R. J; NADLER, S. (eds.). **Foundations of Parasitology**. 9 ed. New York, USA: McGraw-Hill, 2013, p. 9 21.
- ROCHA, R. S. *et al.* Avaliação da esquistossomose e de outras parasitoses intestinais em escolas do município de Bambuí-MG, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,** Uberaba, v. 33, n. 5, p. 431-436, 2000. DOI: https://doi.org/10.1590/S0037-8682200000500004 Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_serial &pid=0037-8682&lng=en&nrm=isso. Acesso em: 22 jan. 2021.
- ROCHE, K. *et al.* Assessing the Parasitic Burden in a Late Antique Florentine Emergency Burial Site. **The Korean journal of parasitology**,[*s.l.*], v.57, n. 6, p. 587-593, 2019. DOI: https://doi.org/10.3347/kjp.2019.57.6.587 Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6960238/. Acesso em: 22 jan. 2021.
- ROGERS, R. R.; EBERTH, D. A.; FIORILLO, A. R. **Bonebeds: Genesis, Analysis, and Paleobiological Significance.** Chicago: University of Chicago Press. 2007. *Pen drive*.
- RUFFER, M. A. NOTE ON THE PRESENCE OF "BILHARZIA HAEMATOBIA" IN EGYPTIAN MUMMIES OF THE TWENTIETH DYNASTY [1250-1000 B.C.] **British Medical Journal,** Bethesda, MD, v.1, n.16, 1910. DOI: 10.1136/bmj.1.2557.16-a. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2330583/pdf/brmedj07759-0017b.pdf . Acesso em: 22 fev. 2021.
- RUFFER, M. A. **Studies in paleopathology of Egypt**. Nova York- Chicago: University of Chicago Press, 1921.
- SAMPAIO, J. P.S.; BARROS, V.C. Prevalência de enteroparasitoses em pacientes atendidos em uma unidade pública de saúde no município de Beneditinos PI. **Jornal Interdisciplinar de Biociências**, Teresina, PI, v.2, n.1, 2017. DOI: https://doi.galoa.com.br/doi/10.17648/jibi-2448-0002-1-2-5544 Disponível em: https://revistas.ufpi.br/index.php/jibi/article/view/5544. Acesso em: 22 jan. 2020.
- SANTORO, C.; VINTON, S. D.; REINHARD, K. J. Inca expansion and parasitism in the Lluta Valley: preliminary data. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.98, p.161–3, 2003. DOI: https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000900024. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074 02762003000900024&script=sci_abstract &tlng=pt. Acesso em: 03 jan. 2020.
- SANTOS, I. T. **Alimentação de grupos humanos pré-históricos do sítio arqueológico Furna do Estrago, Pernambuco Brasil.** 2014. Tese (Doutorado em Epidemiologia em Saúde Pública) Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz,

- Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/12984. Acesso em: 20 jun. 2019.
- SANTOS, K. R. *et al.* Comparação entre três técnicas coproparasitológicas na investigação de parasitos intestinais de seres humanos. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, São Paulo, v.52, p.1-9, 2020. DOI: https://doi.org/10.25248/reas.e3521.2020. Disponível em: https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/3521. Acesso em: 10 jan. 2021.
- SAUCHA, C.V.V.; SILVA, J. A. M.; AMORIM, L. B. Condições de saneamento básico em áreas hiperendêmicas para esquistossomose no estado de Pernambuco em 2012. Brasília: Ministério da Saúde, jul./set. 2015. (Série Epidemiologia e Serviços de Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde do Brasil, v. 24, n.3, p. 497-506. DOI: https://doi.org/10.5123/S1 679-49742015000300015. Disponível em: https://www.scielosp.org/article/ress/2015. v24n3/497-506/. Acesso em: 04 jan. 2020.
- SCHOLZ, T. *et al.* Update on the Human Broad Tapeworm (Genus Diphyllobothrium), Including Clinical Relevance. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.22, p.146-160, 2009. DOI: 10.1128 / CMR.00033-08. Disponível em: https://cmr.asm.org/content /22/1/146.short. Acesso em: 17 abr. 2021.
- SEARCEY, N. *et al.* Parasitism of the Zweeloo Woman: Dicrocoeliasis evidenced in a Roman period bog mummy. **International Journal of Paleopathology,** [Amsterdã], v.3, p.224–228, 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijpp.2013.05.006. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981713000521. Acesso em:14 jul. 2019.
- SEO, M. *et al.* Gymnophalloides seoieggsfrom the stool of a 17th century femalemummy found in Hadong, Republic of Korea. **Journal of Parasitology**, [Lawrence], v.94, p. 467–472, 2008. DOI: https://doi.org/10.1645/GE-1365.1. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal- of-parasitology/article-abstract/94/2/467/7777. Acesso em: 19 abr. 2021.
- SEO, M. *et al.* Paleoparasitological report on the stool from a Medieval child mummy in Yangju, Korea. **Journal of Parasitology**, [Lawrence], v.93, p. 589-592, 2007. DOI: https://doi.org/10.1645/GE-905R3.1. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/93/3/589/4067. Acesso em: 19 abr. 2021.
- SEO, M. *et al.* The changing pattern of parasitic infection among Korean populations by paleoparasitological study of Joseon Dynasty mummies. **Journal of Parasitology**, [Lawrence], v.100, p.147–150, 2014. DOI: https://doi.org/10.1645/12-60.1. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/100/1/147/6511 Acesso em: 19 abr. 2021.
- SEO, M. *et al.* The Influence of Differential Burial Preservation on the Recovery of Parasite Eggs in Soil Samples from Korean Medieval Tombs. **Journal of Parasitology,** v.96, n. 2, p. 366–370, 2010. DOI: https://doi.org/10.1645/GE-2131.1 Disponível em: https://meridian. allenpress. com/journal-of-parasitology/article-abstract/96/2/366/4662. Acesso em: 19 abr. 2021.
- SEQUEIRA, K.; TCG, OLIVEIRA-SEQUEIRA. Comparison of three concentration methods for the recovery of canine intestinal parasites from stool samples. **Experimental Parasitology,** San Diego, v.126, n.2, p. 214-216, 2010. DOI: https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.04.027. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489410001542. Acesso em: 19 abr. 2021.

- SHIN, D. H. *et al.* Detection of parasite eggs from a moat encircling the royal palace of Silla, the ancient Korean Kingdom. **Journal of Archaeological Science**, [Amsterdã], v.36, p.2534–2539, 2009. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jas.2009.07.009. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305440309002507. Acesso em: 19 abr. 2021.
- SIANTO, L. *et al.* Animal helminths in human archaeological remains: a review of zoonoses in the past. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 51, n.3, p. 119-130, May-June, 2009. DOI: https://doi.org/10.1590/S0036-46652009000300001. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0036-46652009000300001&script=sci_arttext Acesso em: 02 mar. 2021.
- SIANTO, L. *et al.* Eating lizards: A millenary habit evidenced by paleoparasitology. **BMC Research Notes,** [Switzerland], v.5, p.1–4, 2012b. DOI: https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-586. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1186/1756-0500-5-586#citeas. Acesso em:19 abr. 2021.
- SIANTO, L. *et al.* Echinostomes in felid coprolites from Brazil. **Journal of Parasitolology**, [Lawrence], v.102, p.385–387, 2016. DOI: https://doi.org/10.1645/15-819. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/102/3/385/4884 Acesso em: 19 abr. 2021.
- SIANTO, L. *et al.* Estudo Paleoparasitológico de Sedimentos Associados a Enterramentos Humanos da Necrópole da Igreja de São Julião. **NOTICIÁRIO ARQUEOLÓGICO**. Lisboa, n.20,p.110-111, jul. 2015. Disponível em: https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/29033/1/Sianto%20et%20al%20Al-Madan.pdf Acesso em: 19 abr. 2021.
- SIANTO, L. *et al.* Helminths in feline coprolites up to 9000 years in the Brazilian Northeast. **Parasitology International**, 63: 851–857, 2014. DOI: https://doi.org/10.1016/j.parint. 2014.08.002. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383576914001081. Acesso em: 19 abr. 2021.
- SIANTO, L. *et al.* The finding of *Echinostoma* (Trematoda: Digenea) and hookworm eggs in coprolites collected from a Brazilian mummified body dated 600-1,200 years before present. **Journal of Parasitology**, [Lawrence], v.91, p. 972-975, 2005. DOI: https://doi.org/10.1645/GE-3445RN.1. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article-abstract/91/4/972/3701 Acesso em:19 abr. 2021.
- SIANTO, L. *et al.* Trichuris sp. de 1.040 +/- 50 anos de coprólitos Cervidae do sítio arqueológico de Furna do Estrago, Pernambuco, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.107, p.273–274, 2012a. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762012000200018. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762012000200018&script=sci_arttext. Acesso em: 19 abr. 2021.
- SIANTO, L. Parasitismo em populações Pré-Colombianas: helmintos de animais em coprólitos de origem humana do Parque Nacional Serra da Capivara, PI, Brasil. 2009. Tese (Doutorado em Saúde Pública) Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/2547. Acesso em:19 abr. 2021.

- SILVA, G.; MELO, S. F. B. Sítios Arqueológicos de Pernambuco: uma Abordagem Cultural. *In*: V COLÓQUIO DE HISTÓRIA: HISTORIOGRAFIA, PESQUISA E PATRIMÔNIO, 2011, Recife. **Anais** [...], Recife, Universidade católica de Pernambuco, 2011. p. 1305-1318. Disponível em: http://www.unicap.br/coloquiodehistoria/wp-content/uploads/2013/11/5Col-p.1305-1318.pdf. Acesso em: 02 jan. 2021.
- SILVA, H. P; RODRIGUES-CARVALHO, C. A Busca pelos Primeiros Americanos. In: SILVA, H. P; RODRIGUES-CARVALHO, C. (Orgs.). Nossa origem: o povoamento das Américas, visões multidisciplinares. Rio de Janeiro: Vieira & Lent Casa Editorial, 2006. P.11-19. Disponível em: https://leaarqueologia.files.wordpress.com/2016/05/nossa-origem.pdf. Acesso em: 05 jan. 2020.
- SILVA, L. P.; SILVA, R. M. G. Ocorrência de enteroparasitos em centros de educação infantil no município de Patos de Minas, MG, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia MG, v.26, p.147-151, jan/fev. 2010. Disponível em: http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/7038.Acesso em: 04 abr. 2021.
- SOARES, F. A. Utilização da técnica de flotação por ar dissolvido (FAD) como vnova ferramenta de detecção de enteroparasitos humanos. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2016. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/330568. Acesso em:20 jul. 2020.
- SOLARI, A. *et al.* Escavações arqueológicas no abrigo funerario Pedra do Cachorro, Buique–PE. **Clio Serie Arqueologica**, Recife, Pe, v.31, p.105–135, 2016. DOI: 10.20891/clio. v31i1p105-135. Disponível em: file:///D:/Adeliana/Downloads/246574-173247-1-SM%20(1).pdf . Acesso em: 20 jan. 2021.
- SORG, M.; HAGLUND, W. Advancing forensic taphonomy: purpose, theory, and process. *In*: HAGLUND, W.D.; SORG, M.H. (Eds.). **Advances in Forensic Taphonomy Method, Theory, and Archaeological Perspectives.** Boca Raton, Florida: CRC Press, 2002. p. 3–30.
- SOUZA, M. V. *et al.* New paleoparasitological investigations from the pre-inca to hispanic contact period in northern Chile. **Acta tropica**, Barcelona, v.178, p. 290 296, 2018. DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.11.021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/321331550_New_Paleoparasitological_Investigations_from_the_Pre Inca_to_Hispanic_Contact_Period_in_northern_Chile. Acesso em: 04 jan. 2021.
- SOUZA, M. V. Paleoparasitologia da infecção por oxiurídeos, com ênfase em Enterobius vermicularis (Linnaeus 1758). 2017. Tese (Doutorado em Epidemiologia em Saúde)- Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro-RJ, 2017. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/27011. Acesso em: 04 jan. 2021.
- SOUZA, M. V. Parasitos em coprólitos do Parque Nacional da Serra das Confusões, Piauí, Brasil. 2013. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/24532. Acesso em: 05 maio 2020.
- SLEPCHENKO, S.; REINHARD, K. Paleoparasitology and pathoecology in Russia: Investigations and perspectives. **International Journal of Paleopathology**, [Amsterdã], n.22, p.39–44, 2018. DOI: 10.1016 / j.ijpp.2018.03.005. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm. nih.gov/29631124. Acesso em: 05 maio 2020.

- STOLL, N. R. Investigations on the control of hookworm disease. XV An effective method of counting hookworm eggs in feces. **American Journal of Hygiene**, [s.l.]. v.3, p. 59-70, 1923.
- TANTALEAN, M.; MICHAUD, C. Huésped definitivo de Spirometra mansonoides (Cestoda, Diphyllobothriidae) en el Perú. **Peruvian Journal of Biology**, Lima, v.12, n.1, p.153-157, 2005. DOI: 10.15381 / rpb.v12i1.2370. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/262585354_Huespedes_definitivos_de_Spirometra_mansonoides_Cestoda_Diphyllobothriidae_en_el_Peru. Acesso em: 05 jan. 2021.
- TEIXEIRA-SANTOS, I. **Resíduos alimentares, infecções parasitárias e evidência do uso de plantas medicinais em grupos pré-históricos das Américas**. 2010. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: https://bvssp.icict.fiocruz.br/pdf/25994_teixeira-santositm.pdf. Acesso em: 03 jan. 2018.
- TRIGG, H. B. *et al.* Steinberg Archaeological parasites as indicators of environmental change in urbanizing landscapes: implications for health and social status. **American Antiquity**, Cambridge, v.82, n.3, p. 517-535, 2017. DOI: 10.1017/aaq.2017.6. Disponível em: https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge core/content/view/ B318FCF47 CE737B07574A8E36878A6BB/S0002731617000063a. pdf/archaeological_parasites_as_indicators_of_environmental_change_in_urbanizing_landscapes_implications_f or_health_and_social_status.pdf. Acesso em: 10 abr. 2021.
- VAN-CLEAVE, H.J; ROSS, J.A. A Method for Reclaiming Dried Zoological Specimens. **Science**, v.105,p.2725, Mar. 1947. DOI: 10.1126 / science.105.2725.318. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17740567/. Acesso em: 03 abr. 2021.
- ZIMMERMAN, M.R. Enterobiasis in pre-Columbian America. **Paleopathol News**. v. 42, n. 8, June 1983. PMID: 11611196.
- YEH, H-Y. *et al.* Early evidence for travel with infectious diseases along the Silk Road: Intestinal parasites from 2000 year -old personal hygiene sticks in a latrine at Xuanquanzhi Relay Station in China. **Journal of Archaeological Science**, [Amsterdã], v. 9, p.758–764, 2016. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jasrep. 2016.05.010. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S 2352409X1630164X. Acesso em: 18 abr. 2021.
- YEH, H-Y. *et al.* Human intestinal parasites from a Mamluk Period cesspool in the Christian quarter of Jerusalem: Potential indicators of long distancetravel in the 15th century. **International Journal of Paleopathology**, [Amsterdã], v.9, p.69–75, 2015. DOI: 10.1016/j.ijpp.2015.02.003. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981715000108. Acesso em: 18 abr. 2021.
- WHO. World Health Organization. Eliminação de Doenças Negligenciadas e Outras Infecções Relacionadas à Pobreza. 66a SESSÃO DO COMITÊ REGIONAL DA OMS PARA AS AMÉRICAS. Washington, D.C., EUA, 2014. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/ 10665/335272/AFR-RC66-19-por.pdf. Acesso em: 03 abr. 2021.
- WHO. World Health Organization. **Soil-transmitted helminthiases: number of children treated in 2012**.WHO Weekly Epidemiological Record, Geneva, Switzerland, n. 13, p. 133-140, 2014. Disponível em: https://www.who.int/intestinal_worms/resources/who_wer8913/en/. Acesso em: 20 de abril de 2021.

WHO. World Health Organization. **The global burden of disease: 2004 update.** Genebra, 2008. Disponível em: https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf?ua=1. Acesso em: 20 abr. 2021.

WHO. World Health Organization. **Tópicos de saúde: Infecções helmínticas transmitidas pelo solo.** Geneva, Switzerland, 2 de março de 2020. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections. Acesso em: 05 abr. 2021.

WIWANITKIT, V. Ocular Sparganosis. **Orbit - The International Journal on Orbital Disorders, Oculoplastic and Lacrimal Surgery**, [*s.l.*], v.33, n.6, 474, 2014. DOI: 10.3109 / 01676830.2014.950288. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25207627/ Acesso em: 03 abr. 2021.

WYMAN, J. An account of some kjoekkenmoeddings, or shell-heaps, in Maine and Massachusetts. **The American Naturalist,** Chicago, v.1, p.561-584, 1868. Disponível em: https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/270150. Acesso em: 18 abr. 2020.

YOUNG, K. H. *et al.* Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. **Journal Clinical Microbiology,** Washington, DC, v.10, 852–853, 1979. DOI:10.1128/JCM.10.6.852-853.1979. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/574877/. Acesso em: 03 abr. 2021.