

INICIATIVAS NO CAMPO DA BIOLOGIA MOLECULAR E IMUNOLOGIA QUE DIMINUEM A QUANTIDADE DE MATERIAL ARQUEOLÓGICO UTILIZADO E MAXIMIZAM O DIAGNÓSTICO DE MAIOR NÚMERO DE AGENTES CAUSADORES DE DOENÇAS INFECTO-PARASITÁRIAS

Daniela Leles^{*},

Fernanda Guimarães^{**},

Elizabeth Alves^{**},

Bruna Saldanha^{**},

Elisa Pucu^{**}

Resumo

Um dos ramos da Paleoparasitologia permite estudar doenças infecto-parasitárias a partir de evidências diretas, pela recuperação de fragmentos de DNA ou Antígenos de agentes etiológicos, a partir de material arqueológico. Contudo, hoje não é mais cabível o uso indiscriminado de amostras e em grandes quantidades, dado a raridade do material que muitas vezes é único. Assim, desenvolver protocolos e inovar em estratégias que propiciem a conservação desse material são questões preponderantes para a Paleoparasitologia do futuro, e ressalta-se a importância da validação dessas metodologias primeiramente em modelos experimentais antes que sejam aplicadas ao material antigo. Na Universidade Federal Fluminense, a linha de pesquisa de Paleoparasitologia compõe o programa de Pós-graduação em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas, e temos investido em iniciativas para preservação de amostras arqueológicas. Mostramos recentemente que o resíduo que sobra da extração de DNA e que normalmente é descartado pode ser usado para imunodiagnóstico, e o resíduo que

* Professora e Pesquisadora da Universidade Federal Fluminense-UFF, Rua Professor Hernani Melo, n.101, sala 212D, Parasitologia, São Domingos, Niterói, RJ, CEP: 24230-130; dleles@id.uff.br

** Discentes do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas da UFF.

sobra do imunodiagnóstico também pode ter seu DNA extraído: a validação foi feita para o protozoário intestinal *Giardia duodenalis* (Parasitology International, 2018), e agora estamos trabalhando em um modelo para *Cryptosporidium* spp. Também temos desenvolvido PCR (Polymerase Chain Reaction) Multiplex e Duplex que são capazes de identificar mais agentes etiológicos em uma única reação de PCR, portanto, usando menos material obtivemos sucesso até agora na identificação do helminto *Dipylidium caninum*, hospedeiro felino e pulgas (dados ainda não publicados), e estamos tentando padronização para identificação de triatomíneos, carrapato e piolho. Materiais arqueológicos como: coprólitos, sedimentos de latrinas, ossos, dentes e tecidos mumificados são fonte primordial para estudos paleoparasitológicos, ainda que preliminares os resultados são promissores e sem dúvida contribuirão para preservação do material arqueológico.

Palavras-chave: Paleoparasitologia; DNA antigo; Imunodiagnóstico; preservação.

Introdução

A Paleoparasitologia no Brasil completou 40 anos no ano de 2019 (VARGAS *et al.*, 2019) e foi nomeada por um pesquisador brasileiro, Dr. Luiz Fernando Ferreira (1936-2018) no final da década de 70, e desde então diversas pesquisas na área foram e vêm sendo realizadas. A linha de pesquisa se expandiu e hoje existem vários grupos de pesquisa atuando no tema, tanto no Brasil, quanto em outras partes do mundo.

A Paleoparasitologia conta parte da história evolutiva da vida na Terra a partir dos parasitos e microrganismos (LELES *et al.*, 2017) usando como fonte: coprólitos, fossas e latrinas, ossos, dentes, material mumificado, âmbar, dentre outros.

Por ser uma linha de pesquisa de natureza interdisciplinar, ela dialoga diretamente com a arqueologia, paleontologia, medicina, história, biogeografia, dentre várias outras áreas do conhecimento, por isso vai muito além do relato de achados de helmintos, protozoários, artrópodes, vírus, fungos e bactérias em material arqueológico e paleontológico. Através dessa ciência podemos pressupor hábitos culturais, interação com o meio ambiente e outros animais, contato entre os povos, rotas de migrações humanas e animais, modificações na paisagem, e o surgimento, espalhamento e circulação de patógenos, que podem inclusive influenciar o que hoje observamos no planeta (FERREIRA *et al.* 2011).

As grandes descobertas da Paleoparasitologia

Um estudo realizado por Dr. Aduino José Gonçalves de Araújo (1951-2015), pesquisador brasileiro e referência na área, pode corroborar e reafirmar que os primeiros habitantes

do continente americano também chegaram pelo mar, e não exclusivamente pelo Estreito de Bering (ARAUJO *et al.*, 2008). O que permitiu essa descoberta, foi o achado de "geohelmintos", que são parasitos que obrigatoriamente precisam passar pelo solo em condições ideais de temperatura, umidade e oxigenação para manter o ciclo no homem e ser transmitido aos demais. Assim, o encontro de parasitos que são específicos de humanos em coprólitos dos primeiros habitantes do continente americano, mostra que eles já chegaram parasitados na América, ficando comprovado que estes não passaram pelo estreito de Bering, pois o parasito não sobreviveria as temperaturas extremamente frias da Beringia.

No Brasil, achados de *Trypanosoma cruzi* em um corpo parcialmente mumificado que data do pré-contato, encontrado no Estado de Minas Gerais, mudou o que se conhecia sobre a epidemiologia desta parasitose em nosso país, mostrando que muito antes da colonização europeia o protozoário causador da Doença de Chagas já circulava e afetava nossos ancestrais (FERNANDES *et al.*, 2008). O que levou a suspeita de que aquele indivíduo poderia estar infectado com o protozoário, foi o encontro de uma grande massa fecal na região pélvica, o que poderia ser compatível com uma das formas digestivas da Doença na fase crônica, o quadro de "megacólon", as análises de DNA em fragmentos do tecido mumificado comprovaram a hipótese.

Análises de outro tripanossomatídeo, o *Trypanosoma lewisi*, em espécimes depositados em Museu comprovou a extinção de espécies de ratos nativos das Ilhas Christmas, no leste do Oceano Índico. Wyatt *et al.* (2008) conseguiram comprovar a hipótese levantada por Durham (1908) de que a espécie exótica *Rattus rattus* que foi introduzida naquele local estaria infectada por um tripanossomatídeo que foi transmitida as espécies de roedores nativos que não resistiram a esta nova doença, por serem susceptíveis e sensíveis a ela. Estudando as peles dos roedores depositadas nos museus Wyatt *et al.* (2008) encontraram DNA de *Trypanosoma lewisi* em espécimes dos roedores nativos *Rattus macleari* e *Rattus natwitatis* coletadas após a introdução da espécie hospedeira invasora, enquanto o mesmo não foi verificado em espécimes coletadas antes de *Rattus rattus* chegar à ilha. As espécies foram extintas em um período de apenas nove anos, entre 1899 e 1908.

Podemos ainda, por meio desta linha de pesquisa, saber quais alimentos eram consumidos, seu modo de preparo, e até mesmo determinar classes sociais. Por exemplo, o encontro de ovos do parasito *Taenia* spp. em material antigo proveniente de casas ocupadas pela nobreza francesa indicaram o consumo de carnes, e que estas não

estavam sendo bem cozidas. Já em material de período correlato provenientes da população mais pobre ovos desse cestódeo não foi encontrado, o que corrobora a informação de que a alimentação era a base de uma sopa com pequenos fragmentos de carne, mas que esses eram bem cozidos (BOUCHET *et al.*, 2003).

Há também a possibilidade de estudar hábitos que são persistentes na população até os dias atuais. Sianto *et al.* (2012) identificaram em coprólitos humanos encontrados no Estado do Piauí, ovos de um parasito, cujo hospedeiro natural são répteis, o encontro de escamas deste animal nas mesmas amostras onde foram identificados os ovos da família Pharyngodonidae, mostraram que répteis eram consumidos por aquela população ancestral, e bem provavelmente sem cocção. Nos vários abrigos sob rocha existentes na Serra da Capivara, no Piauí é frequente pinturas rupestres com desenhos de répteis; e até recentemente em épocas de extrema seca naquela região a população ainda tinha por hábito o consumo desses pequenos lagartos.

O âmbar é uma resina produzida por algumas espécies de vegetais que endurece quando exteriorizada, aprisionando pequenos artrópodes como insetos, ao endurecer o inseto fica preservado e também os parasitos por ventura a ele associados. Poinar Jr. (2005) descreve o achado de um triatomíneo em âmbar, nele havia uma gota fecal adjacente onde pode ser visualizado formas flageladas semelhantes a *Trypanosoma cruzi*. O âmbar estudado é proveniente da República Dominicana e pode ter até 45 milhões de anos. Após análises por microscopia, os parasitos foram nomeados de *Trypanosoma antiquus* sp. n., uma nova espécie. Na mesma peça de âmbar além de outros artrópodes hematófagos, também foram verificados pêlos semelhantes aos de morcego. A presença dos artrópodes associadas aos pêlos levou aos pesquisadores a levantar a hipótese de que a resina estava sendo depositada em uma cavidade de árvore habitada pelo hospedeiro mamífero, ou seja, provavelmente o morcego. Interessantemente os morcegos são considerados os hospedeiros originais para triatomíneos, e estes últimos são considerados os vetores originais de *Trypanosoma schizotrypanum*. Assim, *T. antiqua* sp. n. poderia ter parasitado morcegos, e este protozoário servindo de progenitor para linhagens que futuramente viriam a infectar outros mamíferos, dentre eles a espécie humana. Além da pesquisa supracitada há vários outros trabalhos com âmbar em que foram identificados diferentes artrópodes e formas primitivas de parasitos; em um dos trabalhos mais recentes, foram identificadas por meio da microscopia, espécies de carrapatos, que muito provavelmente se alimentavam do sangue de dinossauros com penas, não aviários (PEÑALVER *et al.*, 2017).

A paleoparasitologia também ajuda a reescrever eventos que fizeram parte da história da humanidade. Um dos maiores mistérios da história era a causa de morte do "Menino Faraó - Tutankamon", e a Paleoparasitologia, através da biologia molecular, recuperou dessa múmia vestígios de DNA do protozoário *Plasmodium falciparum* (HAWASS *et al.*, 2010). Como a saúde do Faraó já era debilitada, de fato ele pode ter falecido devido a complicações da malária, uma vez que a espécie parasitária encontrada é a mais agressiva.

As doenças também influenciaram as guerras. A documentação histórica relata que os soldados e nobres que fizeram parte das "Grandes Cruzadas" sofriam com diarreias crônicas. Em pelo menos uma dessas situações, a causa da diarreia pode ser comprovada, onde ao se estudar uma latrina que serviu aos "Cruzados", os pesquisadores detectaram antígenos de protozoários intestinais (MITCHELL *et al.*, 2008). Hoje também se acredita que além do frio pelo qual passaram os batalhões de Napoleão Bonaparte e que deflagrou o início da queda do seu Império, as doenças também podem ter comprometido a saúde dos soldados, pois encontraram nos dentes de boa parte daqueles soldados uma bactéria, *Bartonella quintana*, que causa uma doença popularmente conhecida como "febre das trincheiras", e que é transmitida pelo piolho do corpo, *Pediculus humanus humanus*. Em populações imunocomprometidas como fatalmente era o caso daqueles soldados, a doença pode ter os levado ao óbito, já que não tinham marcas de ferimentos por armas de guerra (RAOULT *et al.*, 2006).

Mais recentemente a "metagenômica" vem sendo empregada também em estudos paleoparasitológicos, e tem permitido acessar um nível de informação jamais imaginado, embora essa metodologia exija maior concentração e qualidade do material genético recuperado da amostra, o que nem sempre é possível. Usando essa técnica, pesquisadores descobriram estudando o cálculo dentário de diferentes "Neandertais" da Europa, que aqueles com abscessos dentários estavam consumindo plantas medicinais com o mesmo princípio ativo da "aspirina" (WEYRICH *et al.*, 2017).

Nessa breve revisão totalmente enviesada pelo olhar das autoras foram selecionados alguns trabalhos, e essa foi só uma pequena parte do que a Paleoparasitologia já permitiu "desvelar". Como seu viu por meio do estudo de vários materiais arqueológicos e paleontológicos as potencialidades da Paleoparasitologia são muitas e com o avanço tecnológico essa é uma área em expansão.

Estudos em modelos experimentais

Desde o surgimento da Paleoparasitologia quando novas metodologias ou processos serão empregados, em alguns casos eles envolveram previamente a aplicação em um "modelo experimental", e muitas vezes foram esses testes que permitiram posteriormente "as grandes descobertas" nesse campo do conhecimento. Assim, um pioneiro no uso de modelos experimentais, talvez tenha sido o próprio Sir Armand Ruffer, que é considerado o pai da Paleoparasitologia, pois, também contribuiu com estudos em múmias, onde desenvolveu uma solução para reidratar tecidos e encontrou ovos de *Schistosoma haematobium*, o que corroborou informações contidas em papiros onde é relatado que os egípcios sofriam com a hematúria (RUFFER, 1910).

Callen e Cameron (1960) desenvolveram uma solução para reidratar coprólitos, inicialmente visando itens da dieta, mas que posteriormente permitiu aos paleoparasitologistas empregar técnicas parasitológicas de fezes usualmente aplicadas ao material moderno, como por exemplo a sedimentação espontânea (LUTZ, 1919). Adamson (1976) estudou o efeito da dessecação sobre ovos de *Schistosoma mansoni* e *Schistosoma haematobium* em material experimental simulando em parte as condições do processo de mumificação do Egito Antigo. Fry (1977) avaliou em fezes dessecadas artificialmente os efeitos da desidratação sobre as formas fecais e sua cor, além do impacto sobre os ovos de helmintos. Reinhard *et al.* (1986) testaram diferentes metodologias para recuperar ovos de *Ascaris* sp. em material antigo.

Confalonieri *et al.* (1988) e Araújo *et al.* (1988) iniciaram as pesquisas experimentais da Paleoparasitologia no Brasil, onde os pesquisadores estudaram o efeito da dessecação em ovos de *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos, respectivamente. O objetivo primordial de ambas as pesquisas era saber se haveria alteração morfológica nos ovos e se isso comprometeria o diagnóstico.

Em relação aos protozoários, Bastos *et al.* (1996) e Morocoima (2006) detectaram DNA de *T. cruzi* em tecidos e cartilagem de roedores infectados experimentalmente. Continuando com as análises de protozoários, Terra *et al.* (2004) e Leles *et al.* (2016) demonstraram a possibilidade de se estudar *Toxoplasma gondii* em tecidos dessecados experimentalmente e, nesse último caso, especialmente pela recuperação de fragmentos do DNA. Pesquisas com protozoários teciduais e sanguíneos são importantes para o estudo de ossos e tecidos.

Leles *et al.* (2014) realizaram estudos prévios em modelos experimentais e padronizaram o diagnóstico molecular para *Echinostoma* sp., um helminto que pode ser transmitido pelo

consumo de peixe cru, e posteriormente conseguiram recuperar DNA desse parasito em coprólito humano (datado do período 560+-40 antes do presente), até então só existia diagnóstico morfológico para esse parasito no registro antigo (SIANTO *et al.*, 2005), e que devido a morfologia similar dos ovos, trazia confusão para sua correta identificação.

Freire *et al.* (2015) constataram que não há necessidade da reidratação de coprólitos para extração do DNA, o que diminui a manipulação e conseqüentemente o tempo que o material fica exposto a contaminação ambiental, além de mostrarem que nas amostras não reidratadas a concentração do DNA foi maior.

Camacho *et al.* (2016) verificaram que a técnica mais efetiva para se concentrar ovos de parasitos em amostras de "sambaquis" é a sedimentação espontânea.

O estudo de artrópodes tem sido mais raro, mas Raoult *et al.* (2006) avaliaram diferentes técnicas para a recuperação de *Pediculus humanus humanus* em amostras de sedimento.

Torna-se importante salientar que em alguns dos casos supracitados os testes realizados foram feitos no próprio material antigo, e adicionalmente observamos que em grande parte das pesquisas a ideia inicial do uso de "modelos experimentais" não era primariamente pensando na "preservação do material arqueológico", visão que vem mudando nos últimos anos.

Uma colaboração da Universidade Federal Fluminense com a Fundação Oswaldo Cruz dentro do projeto "Estudos sobre a origem e evolução das doenças: desenvolvimento de protocolos aplicáveis em material de acervos e coleções" coordenado por Aduino Araújo e Sérgio Augusto de Miranda Chaves, financiado pelo edital INOVA-ENSP/Fiocruz e encerrado em 2016 permitiu a publicação de um e-book gratuito disponível no Repositório Institucional da Fundação Oswaldo Cruz por meio do link: <https://bvssp.icict.fiocruz.br/lildbi/docsonline/get.php?id=4949>. No livro em formato digital divulgamos protocolos que podem ser usados em materiais de acervos e coleções, onde o desenvolvimento em modelos experimentais foram fundamentais para o sucesso de algumas metodologias, e em apontar aquelas que permitiriam a otimização do uso das amostras antigas (LELES, 2016).

A importância das coleções para os estudos paleoparasitológicos

No Brasil a coleção Paleoparasitológica e de Fezes Recentes de Animais Luiz Fernando Ferreira lotada na Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (ENSP-Fiocruz-RJ)

foi agora incluída oficialmente entre as coleções biológicas da Fundação Oswaldo Cruz, e atualmente segundo a curadora Márcia Chame, dentre as amostras antigas, a coleção possui 2.977 lotes, dos quais 57% são coprólitos, 24% sedimentos de sítios arqueológicos, 3% sedimentos de urnas funerárias e latrinas, 3% de cabelos e pêlos, 3% de ossos e dentes, 3% de múmias e tecidos mumificados, além de material têxtil, adornos, penas; fragmentos vegetais, resina, dentre outros. As mais antigas são coprólitos do Triássico Médio, originárias de Santa Maria, no Rio Grande do Sul (VARGAS *et al.*; 2019). Adicionalmente a partir das pesquisas realizadas com um desses coprólitos do Triássico Médio, e que pertencia a um "cinodonte", foi possível identificar ovos de helmintos intestinais, o que trás à luz aspectos evolutivos importantes, uma vez que os "cinodontes" são considerados um grupo primitivo aos mamíferos (SILVA *et al.*, 2014; HUGOT *et al.*, 2014).

A oficialização da "coleção" é uma grande conquista para nosso país, pois, assegura a "guarda" e o estudo das amostras, mas principalmente nos lembra da importância da preservação e conservação de amostras raras, e do nosso compromisso enquanto pesquisadores e usuários em também zelar pelo material. Os estudos paleoparasitológicos quase sempre implicam no esgotamento da amostra, por isso é preciso avançar no desenvolvimento de protocolos que possam usar menor quantidade de material para atender maior número de usuários, e extrair mais informações das amostras. Ou ainda olhar para materiais alternativos, como (SLON *et al.*, 2017) que conseguiram recuperar DNA de hominídeos e animais extintos em sedimentos de cavernas, ou seja, sem necessariamente estudar diretamente os ossos.

Iniciativas recentes para preservação de material arqueológico no âmbito da Paleoparasitologia brasileira: resultados preliminares

Muitas vezes ideias inovadoras podem vir de fracassos ou frustrações. Em várias partes do mundo tem se usado a "metagenômica" para estudos de amostras antigas, que é capaz de fazer uma varredura de todo o DNA contido na amostra, mas, em geral grande concentração e alta qualidade do DNA são requeridas para o sucesso do ensaio. Tentamos realizar ensaio metagenômico em um fragmento de coprólito de "preguiça terrícola", *Nothrotherium maquinense*, porém, não tínhamos DNA em quantidade e qualidade suficiente para o ensaio, mas nesse procedimento a alíquota da amostra cedida para o ensaio molecular foi esgotada, e isso nos fez pensar em um experimento que pudesse resgatar algum dado daquele material. Em qualquer laboratório onde se

realiza extração de DNA moderno ou imunodiagnóstico normalmente o resíduo do processamento das amostras é jogado fora, mas quando trabalhamos com amostras raras normalmente acabamos guardando esses resíduos, ainda que em um primeiro momento não se tenha uma clara definição do que será feito deles. Mas, na situação exposta acima, resolvemos testar em um modelo experimental com amostras modernas se o resíduo que sobra da extração do DNA pode ser usado para o imunodiagnóstico, especificamente um teste imunocromatográfico, e vice-versa. O teste exitoso no modelo experimental propiciou posteriormente detectar por imunodiagnóstico a presença do protozoário intestinal *Giardia duodenalis* naquele resíduo da extração de DNA feito a partir do fragmento de coprólito da "preguiça terrícola", e também de uma "paleolhama" (LELES *et al.*, 2018). Esse estudo permitiu fazer inferências sobre aspectos evolutivos desse protozoário intestinal, uma vez que, na gruta onde foi encontrada a "preguiça terrícola" há pinturas rupestres, mostrando, portanto a presença humana, e o Prof. Cástor Cartelle, co-autor do trabalho e curador do Museu de Ciências Naturais da PUC de Belo Horizonte - MG, nos informou que encontrou nessa mesma gruta um osso úmero de outra espécie de preguiça extinta com sinais claros de descarnamento provocado pelo homem, ou seja, nossos ancestrais e esses animais extintos co-habitaram o mesmo ambiente. Atualmente muito se discute sobre o potencial zoonótico de *Giardia duodenalis*, ou seja, a transmissão do parasito do animal para a espécie humana, e vice-versa. Assim, será que já naquela época o ciclo zoonótico também não ocorria entre os nossos ancestrais e animais da megafauna? Agora pretendemos fazer um estudo similar a este para outros protozoários, iniciando pelo *Cryptosporidium* spp., resultados preliminares foram recentemente apresentados no 55º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, XXVI Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, ChagasLeish 2019, realizado em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Outro desafio tem sido padronizar PCR multiplex e duplex, que como relatado anteriormente, contribuem para conservação do material arqueológico, pois a partir de menor quantidade de DNA e conseqüentemente menor quantidade de amostra é possível se detectar mais de um agente etiológico em uma mesma reação. Recentemente obtivemos sucesso na padronização em coprólito experimental para diferentes combinações de PCR duplex: *Dypilidium caninum*/Pulgas, Hospedeiro Felino/Pulgas, e Hospedeiro Felino/*D. caninum*, os resultados preliminares também foram apresentados no evento em Belo Horizonte supracitado. O passo posterior será aplicar a metodologia em uma amostra de coprólito sabidamente positiva para esse helminto. A pesquisa será importante para o estudo do helminto *D. caninum* e dos vetores principais que são as

pulgas *Ctenocephalides felis* e *Ctenocephalides canis* a partir de coprólitos, pois esse parasito é transmitido através da ingestão das pulgas, indo se instalar no intestino de cães e gatos, e acidentalmente do homem. Supomos que essa parasitose tem sido subestimada nas pesquisas paleoparasitológicas, pois o diagnóstico até o momento realizado é o morfológico, assim a fragmentação das estruturas seja do helminto ou do vetor podem comprometer a identificação desses agentes etiológicos. Já para o diagnóstico molecular não há necessidade da integridade morfológica das estruturas. Adicionalmente o estudo também pode ajudar na identificação do hospedeiro gerador do coprólito, quando estes forem felinos.

Pretendemos dar continuidade a padronização de PCR multiplex também para triatomíneos, carrapatos e piolhos, e até o momento obtivemos êxito para padronização de PCR convencional para os dois últimos (PUCU *et al.*, 2019). A busca de artrópodes em coprólitos ainda é pouco explorada pela Paleoparasitologia, porém, eles podem ser uma pista inicial sobre a ocorrência de diversas doenças infecto-parasitárias em populações antigas, uma vez que vários artrópodes são vetores de patógenos. Assim, os coprólitos, também podem ser um material alternativo ou complementar de estudo para infecções que anteriormente só eram pesquisadas a partir de ossos, dentes e tecidos mumificados.

Frente a atual situação econômica do país, o desenvolvimento e inovações em protocolos que utilizam ferramentas de diagnóstico menos onerosas que a "metagenômica" permitirão a continuidade das pesquisas paleoparasitológicas no Brasil, assim como contribuirão para "Arqueologia" e "Paleontologia" do futuro ao desenvolver protocolos que usam menor quantidade de material, e portanto, ajudam a preservar amostras raras para as futuras gerações.

Gostaríamos de ressaltar que um "futuro profissional" consciente da importância da preservação e da conservação do patrimônio arqueológico e paleontológico pode e deve ser estimulado desde a primeira infância. Assim, a Paleoparasitologia tem também investido em projetos de Educação e Divulgação Científica por meio de oficinas e produção de materiais de acesso aberto como livros, atividades, jogos, dentre outros. Foi criado um blog (<https://paleoparasitologiaparatodos.wordpress.com/sobre/>) para deposição de parte desse material (LELES; GUIMARÃES, 2018). A primeira iniciativa foi a produção de um livro de história e cartilha de atividades financiados pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e cuja finalidade é apresentar a Paleoparasitologia para o público infantil, ambos foram depositados no Repositório

Institucional da UFF e podem ser baixados gratuitamente por meio dos links: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/4016> e <https://app.uff.br/riuff/handle/1/4017> (LELES, 2017; LELES e GUIMARÃES, 2017). Agora estamos finalizando um livro paradidático também de acesso aberto e que será destinado à Educação Básica, onde o professor terá autonomia para apresentar conteúdos dentro da Paleoparasitologia, e onde sugerimos diversas atividades que poderão ser realizadas dentro do tema, o resultado preliminar desse trabalho também foi apresentado no evento da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e Parasitologia realizado em Belo Horizonte, 2019. Temos a convicção de que os materiais contribuirão para uma "Educação" e "Ciência" aberta de qualidade e ajudarão a formar cidadãos conscientes da importância da preservação do "Patrimônio Arqueológico e Paleontológico".

Agradecimentos

Os autores agradecem às agências de fomento FAPERJ, CAPES (código 001), CNPq e PROEX, aos laboratórios multiusuários de microbiologia e parasitologia, e de criogenia da UFF, e à plataforma de sequenciamento RPT01A da Fiocruz, pelo uso de suas instalações e/ou equipamentos para realização de parte dos experimentos.

Referências

- ADAMSON, P. B. Schistosomiasis in antiquity. *Medical History*, v. 20, n. 2, p. 176-88, 1976.
- ARAUJO, Adauto. Dessecação experimental de fezes contendo ovos de ancilostomídeos. In: FERRREIRA, Luiz Fernando; ARAUJO, Adauto; CONFALONIERI, Ulisses (Org.). *Paleoparasitologia no Brasil*. Rio de Janeiro: Editora PEC/ENSP, 1988. p. 111–112.
- ARAUJO, Adauto *et al.* Parasites as probes for prehistoric human migrations? *Trends Parasitol*, v. 24, n. 3, p. 112-115, 2008.
- BASTOS, Otílio Machado *et al.* Experimental paleoparasitology: identification of *Trypanosoma cruzi* DNA in desiccated mouse tissue. *Paleopathology newsletter*, v. 94, p. 5-8, 1996.
- CALLEN, E. O.; CAMERON, T. W. M. A prehistoric diet revealed in coprolites. *New Scientist*, v. 8, p. 35-40, 1960.
- BOUCHET, Françoise *et al.* The state of the art of paleoparasitological research in the Old World. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, suppl. 1, p. 95-101, 2003.
- CAMACHO, Morgana *et al.* Investigation of biodegradation in three different sediment cores from a shellmound (sambaqui) of Brazil, using *Ascaris lumbricoides* eggs as a model. *Journal of Archaeological Science: Reports*, v. 9, p. 358-365, 2016.
- CONFALONIERI, Ulisses *et al.* The experimental approach to paleoparasitology: desiccation of *Trichuris Trichiura* eggs. *Paleopathology newsletter*, v. 51, p. 9-11, 1985.

- DURHAM, H. E. Notes on Nagana and on some Haematozoa observed during my travels. *Parasitology*, v.1, p. 227-235, 1908.
- FERNANDES, Alexandre *et al.* Pre-Columbian Chagas disease in Brazil: *Trypanosoma cruzi* I in the archaeological remains of a human in Peruaçu Valley, Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 103, n. 5, p. 514-516, 2008.
- FERREIRA, Luiz Fernando; REINHARD, Karl; ARAUJO, Adauto. *Fundamentos da Paleoparasitologia*. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2011.
- FREIRE, Andressa *et al.* It is needless to rehydrate archeological samples to extract ancient DNA. *Parasitology International*, v. 64, n. 5, p. 303-304, 2015.
- FRY, Gary F. Analysis of prehistoric coprolites from Utah. *Anthropological Papers*, v. 97, n. 1, p. 1-25, 1977.
- HAWASS, Zahi *et al.* Ancestry and Pathology in King Tutankhamun's Family. *JAMA*, v. 303, n. 7, p. 638, 2010.
- HUGOT, Jean-Pierre *et al.* Did the dinosaurs have pinworms? Discovery of a 240 million year old nematode parasite egg in a cynodont coprolite sheds light on the early origin of nematode parasites in vertebrates. *Parasites & Vectors* v.7, p. 486, 2014.
- LELES, Daniela *et al.* Insights about echinostomiasis by paleomolecular diagnosis. *Parasitology International*, v. 63, n. 4, p. 646-649, 2014.
- LELES, Daniela. *Guia Prático: protocolos para o estudo de doenças infecto-parasitárias em amostras de acervo e coleções*. 1. ed. Rio de Janeiro: Albatroz, 2016. Disponível em <<https://bvssp.icict.fiocruz.br/lildbi/docsonline/get.php?id=4949>>. Acesso em: 10 dez. 2019
- LELES, Daniela. A vida dos nossos tá-tá-tá...tataravós. Poços de Caldas: Editora Tagarela, 2017. Disponível em: <<https://app.uff.br/riuff/handle/1/4016>>. Acesso em: 10 dez. 2019
- LELES, Daniela; GUIMARÃES, Fernanda. Quem estuda a vida dos nossos tá-tá-tá...tataravós? Poços de Caldas: Editora Tagarela. Disponível em: <<https://app.uff.br/riuff/handle/1/4017>>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- LELES, Daniela *et al.* Methodological innovations for the study of irreplaceable samples reveal giardiasis in extinct animals (*Nothrotherium maquinense* and *Palaeolama maior*). *Parasitology International*, v. 67, n. 6, p. 776-780, dez. 2018.
- LELES, Daniela; GUIMARÃES, Fernanda. Desenvolvimento de “jogos abertos” para a divulgação científica na Educação Básica. *Cadernos de Biblioteconomia, Arquivística e Documentação*, v. 1, n. 1, p. 222-226, 2018.
- LUTZ, Adolpho. O *Schistosomum mansoni* e a Schistosomatose segundo observações, feitas no Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 11, n. 1, p. 121-155, 1919.
- MITCHELL, Piers D. *et al.* Dysentery in the crusader kingdom of Jerusalem: an ELISA analysis of two medieval latrines in the City of Acre (Israel). *Journal of Archaeological Science*, v. 35, n. 7, p. 1849-1853, 2008.
- MOROICOIMA, Antonio *et al.* *Trypanosoma cruzi*: experimental parasitism of bone and cartilage. *Parasitology Research*, v. 99, n. 6, p. 663-668, 2006.
- PEÑALVER, Enrique *et al.* Ticks parasitised feathered dinosaurs as revealed by Cretaceous amber assemblages. *Nature communications*, v.8, n.1, p. 1924, 2017.
- POINAR Jr., George. *Triatoma dominicana* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), and *Trypanosoma antiquus* sp. n. (Stercoraria: Trypanosomatidae), the First Fossil

Evidence of a Triatomine-Trypanosomatid Vector Association. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, v. 5, n.1, 2005.

PUCU, Elisa *et al.* Identification of Arthropods By Polymerase Chain Reaction As Probes For Infectious Disease Studies In Experimental Coprolites. *The Journal of parasitology*, v. 105, n. 1, p. 133-134, 2019.

RAOULT, Didier *et al.* Evidence for Louse-Transmitted Diseases in Soldiers of Napoleon's Grand Army in Vilnius. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 193, n. 1, p. 112-120, 2006.

REINHARD, Karl *et al.* Recovery of parasite remains form coprolites and latrines: aspects of paleoparasitological technique. *Anthropology Faculty Publications*, v. 1, n. 1, p. 83-108, 1986.

RUFFER, Armand M. Note on the presence of "Bilharzia haematobia" in egyptian mummies of the twentieth dynasty [1250-1000 B.C.]. *British medical journal*, v. 1, n. 2557, p. 16, 1910.

SIANTO, Luciana *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 Parasitol*, v. 91, p. 972-975, 2005.

SIANTO, Luciana *et al.* Eating lizards: a illenary habit evidenced by Paleoparasitology BMC Research Notes, v.5, p.586, 2012.

SILVA, Priscilla A. *et al.* A new ascarid species in cynodont coprolite dated of 240 million years. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 86, n. 1, p.265-269, 2014.

SLON, Viviane *et al.* Neandertal and Denisovan DNA from Pleistocene sediments. *Science*, v. 356, n. 6338, p. 605-608, 2017.

TERRA, Márcia Andreia Barge Loução *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* DNA by polymerase chain reaction in experimentally desiccated tissues. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 99, n. 2, p. 185-188, 2004.

VARGAS, Tatiane; LOUSADA, Kath; BOAR, Cristiane. *Paleoparasitologia, ciência na qual os mortos ensinam os vivos, celebra 40 anos - Informe ENSP*. Disponível em: <<http://www.ensp.fiocruz.br/portal-ensp/informe/site/materia/detalhe/45582>>. Acesso em: 16 ago. 2019.

Wyatt, Kelly B. *et al.* Historical Mammal Extinction on Christmas Island (Indian Ocean) Correlates with Introduced Infectious Disease. *PLoS ONE*, v.3, n.11, p. e3602, 2008.

WEYRICH, Laura S. *et al.* Neanderthal behaviour, diet, and disease inferred from ancient DNA in dental calculus. *Nature*, v. 544, n. 7650, p. 357-361, 2017.